n° d'ordre :

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITE SCIENTIFIQUE ET MEDICALE DE GRENOBLE

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE 3e CYCLE

par

Mme Mireille FAVRE

SUJET

Etude de la maladie rénale chez les souris de la souche PS.

Soutenue le 16 octobre 1973 devant la Commission d'Examen

JURY

P. SENGEL — Président

C. MOURIQUAND

Y. PIERY

J. MOURIQUAND

C. MICOUIN

— Examinateurs

n° d'ordre :

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITE SCIENTIFIQUE ET MEDICALE DE GRENOBLE

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE 3e CYCLE

par

Mme Mireille FAVRE

SUJET

Etude de la maladie rénale chez les souris de la souche PS.

Soutenue le 16 octobre 1973 devant la Commission d'examen

JURY

P. SENGEL — Président

C. MOURIQUAND

Y. PIERY

J. MOURIQUAND

C. MICOUIN — examinateurs

Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

https://archive.org/details/IA41534920_0022

UNIVERSITE SCIENTIFIQUE
ET MEDICALE DE GRENOBLE

LISTE DES PROFESSEURS

Président : Monsieur Michel SOUTIF
Vice-Président : Monsieur Gabriel CAU

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	ANGLES D'AURIAC Paul	Mécanique des fluides
	ARNAUD Georges	Clinique des maladies infectieuses
	ARNAUD Paul	Chimie
	AUBERT Guy	Physique
	AYANT Yves	Physique approfondie
Mme	BARBIER Marie-Jeanne	Electrochimie
MM.	BARBIER Jean-Claude	Physique expérimentale
	BARBIER Reynold	Géologie appliquée
	BARJON Robert	Physique nucléaire
	BARNOUD Fernand	Biosynthèse de la cellulose
	BARRA Jean-René	Statistiques
	BARRIE Joseph	Clinique chirurgicale
	BENOIT Jean	Radioélectricité
	BERNARD Alain	Mathématiques pures
	BESSON Jean	Electrochimie
	BEZES Henri	Chirurgie générale
	BLAMBERT Maurice	Mathématiques pures
	BOLLIET Louis	Informatique (IUT B)
	BONNET Georges	Electrotechnique
	BONNET Jean-Louis	Clinique ophtalmologique
	BONNET-EYMARD Joseph	Pathologie médicale
	BONNIER Etienne	Electrochimie Electrométallurgie
	BOUCHERLE André	Chimie et toxicologie
	BOUCHEZ Robert	Physique nucléaire
	BOUSSARD Jean-Claude	Mathématiques appliquées
	BRAVARD Yves	Géographie
	BRISSONNEAU Pierre	Physique du solide
	BUYLE-BODIN Maurice	Electronique
	CABANAC Jean	Pathologie chirurgicale
	CABANEL Guy	Clinique rhumatologique et hydrologie
	CALAS François	Anatomie
	CARRAZ Gilbert	Biologie animale et pharmacodynamie
	CAU Gabriel	Médecine légale et toxicologie
	CAUQUIS Georges	Chimie organique
	CHABAUTY Claude	Mathématiques pures
	CHARACHON Robert	Oto-rhino-laryngologie
	CHATEAU Robert	Thérapeutique
	CHENE Marcel	Chimie papetière
	COEUR André	Pharmacie chimique
	CONTAMIN Robert	Clinique gynécologique
	COUDERC Pierre	Anatomie pathologique
	CRAYA Antoine	Mécanique
Mme	DEBELMAS Anne-Marie	Matière médicale
MM.	DEBELMAS Jacques	Géologie générale
	DEGRANGE Charles	Zoologie
	DESRE Pierre	Métallurgie
	DESSAUX Georges	Physiologie animale
	DODU Jacques	Mécanique appliquée
	DOLIQUE Jean-Michel	Physique des plasmas
	DREYFUS Bernard	Thermodynamique
	DUCROS Pierre	Cristallographie
	DUGOIS Pierre	Clinique de dermatologie et syphiligraphie
	FAU René	Clinique neuro-psychiatrique
	FELICI Noël	Electrostatique

MM.	GAGNAIRE Didier	Chimie physique
	GALISSOT François	Mathématiques pures
	GALVANI Octave	Mathématiques pures
	GASTINEL Noël	Analyse numérique
	GEINDRE Michel	Electroradiologie
	GERBER Robert	Mathématiques pures
	GIRAUD Pierre	Géologie
	KLEIN Joseph	Mathématiques pures
MMe	KOFLER Lucie	Botanique et physiologie végétale
MM.	KOSZUL Jean-Louis	Mathématiques pures
	Kravtchenko Julien	Mécanique
	KUNTZMANN Jean	Mathématiques appliquées
	LACAZE Albert	Thermodynamique
	LACHARME Jean	Biologie végétale
	Lajzerowicz Joseph	Physique
	LATREILLE René	Chirurgie générale
	LATURAZE Jean	Biochimie pharmaceutique
	LAURENT Pierre	Mathématiques appliquées
	LEDRU Jean	Clinique médicale B
	LLIBOUTRY Louis	Géophysique
	LOUP Jean	Géographie
Mle	LUTZ Elisabeth	Mathématiques pures
	MALGRANGE Bernard	Mathématiques pures
	MALINAS Yves	Clinique obstétricale
	MARTIN-NOEL Pierre	Séméiologie médicale
	MASSEPORT Jean	Géographie
	MAZARE Yves	Clinique médicale A
	MICHEL Robert	Minéralogie et pétrographie
	MOURIQUAND Claude	Histologie
	MOUSSA André	Chimie nucléaire
	NEEL Louis	Physique du solide
	OZENDA Paul	BOtanique
	PAUTHENET René	Electrotechnique
	PAYAN Jean-Jacques	Mathématiques pures
	PEBAY-PEYROULA Jean-Claude	Physique
	PERRET René	Servomécanismes
	PILLET Emile	Physique industrielle
	RASSAT André	Chimie systématique
	RENARD Michel	Thermodynamique
	REULOS René	Physique .industrielle
	RINALDI Renaud	Physique
	ROGET Jean	Clinique de pédiatrie et de puériculture
	SANTON Lucien	Mécanique
	SEIGNEURIN Raymond	Microbiologie et hygiène
	SENGEL Philippe	Zoologie
	SILBERT Robert	Mécanique des fluides
	SOUTIF Michel	Physique générale
	TANCHE Maurice	Physiologie
	TRAYNARD Philippe	Chimie générale
	VAILLAND François	Zoologie
	VALENTIN Jacques	Physique nucléaire
	VAUQUOIS Bernard	Calcul électronique
Mme	VERAIN Alice	Pharmacie galénique
M.	VERAIN Abdré	Physique
Mme	VEYRET Germaine	Géographie
MM.	VEYRET Paul	Géographie
	,rGNAIS Pierre	Biochimie médicale
	YOCCOZ Jean	Physique nucléaire théorique

PROFESSEURS ASSOCIES

MM.	BULLEMER Bernhard	Physique
	HANO JUN-ICHI	Mathématiques pures
	STEPHENS Michaël	Mathématiques appliquées

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M.	BEAUDOING André	Pédiatrie
Mme	BERTRANDRIAS Françoise	Mathématiques pures
MM.	BERTRANDRIAS Jean-Paul	Mathématiques appliquées
	BIAREZ Jean-Pierre	Mécanique
	BONNETAIN Lucien	Chimie minérale
Mme	BONNIER Jane	Chimie générale
MM.	CARLIER Georges	Biologie végétale
	COHEN Joseph	Electrotechnique
	COUMES André	Radioélectricité
	DEPASSEL Roger	Mécanique des fluides
	DEPORTES Charles	Chimie minérale
	GAUTHIER Yves	Sciences biologiques
	GAVEND Michel	Pharmacologie
	GERMAIN Jean-Pierre	Mécanique
	GIDON Paul	Géologie et minéralogie
	GLENAT René	Chimie organique
	HACQUES Gérard	Calcul numérique
	JANIN Bernard	Géographie
Mme	KAHANE Josette	Physique
MM.	MULLER Jean-Michel	Thérapeutique
	PERRIAUX Jean-Jacques	Géologie et minéralogie
	POULOUJADOFF Michel	Electrotechnique
	REBECQ Jacques	Biologie (CUS)
	REVOL Michel	Urologie
	REYMOND Jean-Charles	Chirurgie générale
	ROBERT André	Chimie papetière
	DE ROUGEMONT Jacques	Neurochirurgie
	SARRAZIN Roger	Anatomie et chirurgie
	SARROT-REYNAULD Jean	Géologie
	SIBILLE Robert	Construction mécanique
	SIROT Louis	Chirurgie générale
Mme	SOUTIF Jeanne	Physique générale

MAITRES DE CONFERENCES ET MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mle	AGNIUS-DELORD Claudine	Physique pharmaceutique
	ALARY Josette	Chimie analytique
MM.	AMBLARD Pierre	Dermatologie
	AMBROISE-THOMAS Pierre	Parasitologie
	ARMAND Yves	Chimie
	BEGUIN Claude	Chimie organique
	BELORIZKY Elie	Physique
	BENZAKEN Claude	Mathématiques appliquées
	BILLET Jean	Géographie
	BLIMAN Samuel	Electronique (EIE)
	BLOCH Daniel	Electrotechnique
Mme	BOUCHE Liane	Mathématiques (CUS)

MM.	BOUCHET Yves	Anatomie
	BOUVARD Maurice	Mécanique des fluides
	BRODEAU François	Mathématiques (IUT B)
	BRUGEL Lucien	Energétique
	BUISSON Roger	Physique
	BUTEL Jean	Orthopédie
	CHAMBAZ Edmond	Biochimie médicale
	CHAMPETIER Jean	Anatomie et organogénèse
	CHIAVERINA Jean	Biologie appliquée (EFP)
	CHIBON Pierre	Biologie animale
	COHEN-ADDAD Jean-Pierre	Spectométrie physique
	COLOMB Maurice	Biochimie médicale
	CONTE René	Physique
	COULOMB Max	Radiologie
	CROUZET Guy	Radiologie
	DURAND Francis	Métallurgie
	DUSSAUD René	Mathématiques (CUS)
Mme	ETERRADOSSI Jacqueline	Physiologie
MM.	FAURE Jacques	Médecine légale
	GENSAC Pierre	Botanique
	GIDON Maurice	Géologie
	GRIFFITHS Michaël	Mathématiques appliquées
	GROULADE Joseph	Biochimie médicale
	HOLLARD Daniel	Hématologie
	HUGONOT Robert	Hygiène et médecine préventive
	IDELMAN Simon	Physiologie animale
	IVANES Marcel	Electricité
	JALBERT Pierre	Histologie
	JOLY Jean-René	Mathématiques pures
	JOUBERT Jean-Claude	Physique du solide
	JULLIEN Pierre	Mathématiques pures
	KAHANE André	Physique générale
	KUHN Gérard	Physique
	LACOUME Jean-Louis	Physique
Mme	LAJZEROWICZ Jeannine	Physique
MM.	LANCIA Roland	Physique atomique
	LE JUNTER Noël	Electronique
	LEROY Philippe	Mathématiques
	LOISEAUX Jean-Marie	Physique nucléaire
	LONGEQUEUE Jean-Pierre	Physique nucléaire
	LUU DUC Cuong	Chimie organique
	MACHE Regis	Physiologie végétale
	MAGNIN Robert	Hygiène et médecine préventive
	MARECHAL Jean	Mécanique
	MARTIN-BOUYER Michel	Chimie (CUS)
	MAYNARD Roger	Physique du solide
	MICHOULIER Jean	Physique (IUT A)
	MICOUD Max	Maladies infectieuses
	MOREAU René	Hydraulique (INP)
	NEGRE Robert	Mécanique
	PARAMELLE Bernard	pneumologie
	PECCOUD François	Analyse (IUT B)
	PEFFEN René	Métallurgie
	PELMONT Jean	Physiologie animale
	PERRET Jean	Neurologie
	PERRIN Louis	Pathologie expérimentale
	PFISTER Jean-Claude	Physique du solide
	PHELIP Xavier	Rhumatologie

Mle	PIERY Yvette	Biologie animale
MM.	RACHAIL Michel	Médecine interne
	RACINET Claude	Gynécologie et obstétrique
	RENAUD Maurice	Chimie
	RICHARD Lucien	Botanique
Mme	RINAUDO Marguerite	Chimie macromoléculaire
MM.	ROMIER Guy	Mathématiques (IUT B)
	SHOM Jean-Claude	Chimie générale
	STIEGLITZ Paul	Anesthésiologie
	STOEBNER Pierre	Anatomie pathologique
	VAN CUTSEN Bernard	Mathématiques appliquées
	VEILLON Gérard	Mathématiques appliquées (INP)
	VIALON Pierre	Géologie
	VOOG Robert	Médecine interne
	VROUSSOS Constantin	Radiologie
	ZADWORNY François	Electronique

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

MM.	BOUDOURIS Georges	Radioélectricité
	CHEEKE John	Thermodynamique
	GOLDSCHMIDT Hubert	Mathématiques
	SIDNEY STUARD	Mathématiques pures
	YACOUD Mahmoud	Médecine légale

CHARGES DE FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES

Mme	BERIEL Hélène	Physiologie
Mme	RENAUDET Jacqueline	Microbiologie

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biologie Cellulaire, Département de Recherche Fondamentale, du Centre d'Etudes Nucléaires de Grenoble.

J'exprime ma respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur SENGEL qui a bien voulu m'autoriser à présenter cette thèse et me fair l'honneur d'en présider le Jury.

Je remercie vivement Madame le Docteur MOURIQUAND de m'avoir confié ce sujet et de l'intérêt qu'elle a porté à mon travail. Je lui en suis très reconnaissante.

Monsieur le Professeur MOURIQUAND m'a accueillie dans son laboratoire d'Histologie à la Faculté de Médecine où j'ai apprécié sa grande compétence dans le domaine biologique et médical. Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Mademoiselle PIERY, Maître de conférences, m'a fait l'honneur d'accepter la charge de faire partie du jury de cette thèse. Je lui exprime mes vifs remerciements de bien vouloir juger ce travail.

Monsieur le Docteur MICOUIN, Chef de Service du laboratoire d'Immunologie au Centre de Transfusion Sanguine, a bien voulu me guider et me prodiguer les conseils judicieux qui m'ont permis d'effectuer la partie immunologique de ce travail. Je lui exprime mes vifs remerciements et je l'assure de ma reconnaissance.

L'expérience de Mademoiselle BONNET-EYMARD, dans le domaine de l'immunofluorescence, m'a été très précieuse. Je la remercie et je l'assure de mon amitié.

...

Enfin, je voudrais remercier mes camarades de Biologie Cellulaire auprès desquels j'ai trouvé une ambiance amicale et particulièrement Madame JEUNET pour l'aide qu'elle m'a apportée au cours de ce travail.

Je remercie Madame REYMOND qui a contribué à la dactylographie de ce mémoire.

ETUDE DE LA MALADIE RENALE CHEZ LES SOURIS DE LA SOUCHE PS

- P L A N -

INTRODUCTION.

Historique : la souche de souris PS.

I - Première partie : ANOMALIES SEROLOGIQUES AUTO-IMMUNITAIRES CHEZ LES SOURIS PS.

- Définition de la maladie auto-immune.

I-1 . Chapitre I : L'ANEMIE HEMOLYTIQUE.

I.1.1. - Introduction,
I.1.2. - Matériel et méthode,
I.1.2.1. - Animaux,
I.1.2.2. - Test de Coombs,
I.1.2.2.1. - Principe,
I.1.2.2.2. - Réactifs,
I.1.2.2.3. - Réaction,
I.1.2.2.4. - Lecture.
I.1.3. - Résultats,
I.1.4. - Conclusion.

I.2 . Chapitre II : LES ANTICORPS ANTI-NUCLEAIRES.

I.2.1. - Introduction,
I.2.2. - Matériel et méthode,
I.2.2.1. - Animaux,
I.2.2.2. - Immunofluorescence indirecte,
I.2.2.2.1. - Antigène,
I.2.2.2.2. - Anticorps,
I.2.2.2.3. - Réaction.
I.2.3. - Résultats,
I.2.4. - Discussion,
I.2.5. - Conclusion.

II - Deuxième partie : ETIOLOGIE DE LA MALADIE RENALE CHEZ LES SOURIS PS.

- Introduction.

II.1 . Chapitre I : LA MALADIE A COMPLEXES IMMUNS.

II.1.1. - IntroductiOn,
II.1.2. - Matériel et méthode,
II.1.2.1. - Animaux,
II.1.2.2. - Histologie,
II.1.2.3. - Immunofluorescence directe,
II.1.2.4. - Elution des globulines fixées au niveau du glomérule rénal,
II.1.2.5. - Contrôle de l'activité anti-G de l'éluat.
II.1.2.6. - Contrôle de l'activité anti-noyaux de l'éluat.
II.1.3. - Résultats
II.1.3.1. - Histologie,
II.1.3.2. - Immunofluorescence directe,
II.1.3.3. - Détection des anticorps anti-G dans l'éluat,
II.1.3.4. - Détection des anticorps anti-noyaux dans l'éluat.
II.1.4. - Discussion et conclusion.

II.2.. Chapitre II - AMYLOSE.

II.2.1. - Introduction,
II.2.2. - Matériel et méthode,
II.2.2.1. - Matériel,
II.2.2.2. - Méthode,
II.2.3. - Résultats,
II.2.4. - Discussion,
II.2.5. - Conclusion,

CONCLUSION GENERALE.

Appendice I : Les lignées de souris.
Appendice II : Notions de base.

BIBLIOGRAPHIE.

- E R R A T A -

Page 4. Ligne 4 du 2° § : lire "(59) (60)".
Ligne 5 du 4° § : lire "(59) (60)".
Ligne 5 du 5° § : lire "ces dernières....."

Page 12. Ligne 6 du 4° § : lire "..... sérums anti-globulines....."

Page 21. Dernière ligne : lire "..... virus de la chorioméningite.."

Page 24. Ligne 18 du 2° § : lire "..... glomérules des reins des malades....."

Page 45. Ligne 4 du 2° § : lire "..... Glenner (26) et de ....."

Page 46. Ligne 4 du 2° § : lire "..... un précurseur soluble....."

Page 47. Ligne 5 du 2° § : lire "..... par Ranlov (70) ....."
Dernière ligne : lire "..... un des stimuli ....."

Page 50. Ligne 10 du 1° § : lire "..... cellules E ? G2 ....."

INTRODUCTION

Les virus oncogènes à ARN, agents des leucémies murines, ont fait l'objet d'un nombre considérable de travaux au cours de ces dernières années. L'épidémiologie, la transmission, l'étude du virus en fonction de l'âge de la souris, de la souche utilisée, ont été mieux définis, tandis que l'ultrastructure, la biochimie bénéficiaient de méthodes d'investigation de plus en plus raffinées.

Il est apparu ainsi que la plupart des souches de souris sont infectées par le virus leucémigène, agent des leucémies murines spontanées, appelé virus de Gross du nom de celui qui l'a isolé le premier en 1953 (28). Cependant, l'incidence de leucémies reste faible dans la plupart des souches évoquant par là même un système de régulation cellulaire ou hormonale (32). Il est possible qu'une concentration minimale des virus soit nécessaire pour déclencher le processus leucémique.

On a longtemps cru que les animaux infectés par la transmission verticale dès la naissance, par un phénomène de tolérance immunologique, ne "reconnaissaient" pas le virus dont ils étaient porteurs et, par conséquent, ne développaient pas de réponse immunitaire. En fait, il apparaît de plus en plus certain que cette réponse existe aussi bien dans les souches à haute, qu'à basse incidence de leucémies (37)(42)(63). La relation de cette défense immunologique avec l'éventuelle apparition d'une leucémie ultérieure reste à définir.

Des glomérulonéphrites ont été décrites dans les souches à haute et basse incidence leucémigène (73)(31) de même que chez les animaux porteurs de leucémies viro-induites (10). Différents travaux ont montré que dans certaines souches de souris, ces néphropathies étaient la conséquence de dépôts, au niveau des glomérules, de complexes immuns impliquant des antigènes viraux leucémiques et les anticorps auxquels ils ont donné naissance (32)(63).

La souche de souris PS, qui fait l'objet de cette étude, développait au cours des 20 premières générations de croisements consanguins un taux relativement élevé de leucémies (27%) ainsi que des tumeurs mammaires (36%). Les deux types de malignité étaient parfois associées chez le même animal. A partir de la 21ème génération de croisements consanguins, les bilans établis ont montré une baisse progressive des leucémies qui sont devenues presque exceptionnelles, en même temps que s'installait une pathologie rénale responsable de la mort d'un nombre croissant d'animaux. Des dépôts de substance amyloïde étaient observés au niveau des glomérules rénaux de ces souris.

L'hypothèse de travail a donc été d'établir l'existence d'une relation étiologique entre l'incidence décroissante des léucémies et la pathologie rénale observée de façon croissante chez ces animaux. L'existence d'une réponse immunologique aux virus leucémigènes dont ces animaux sont porteurs et, en particulier, l'étiologie d'une maladie rénale à complexe-immun mettant en jeu le virus de Gross ont été recherchées.

Le modèle d'étude a tout d'abord été la souche de souris NZB et ses hybrides, dont le taux de leucémie est peu élevé bien qu'elles soient porteuses du virus de Gross (G^+)* . Ces souches développent des néphropathies ayant fait l'objet de très nombreux travaux qui ont servi de base à notre étude. En outre, ces animaux sont caractérisés par l'existence d'une maladie auto-immune se traduisant par une anémie hémolytique et par l'existence d'anticorps anti-nucléaires qui viennent se déposer au niveau des reins et sont responsables pour une part des glomérulonéphrites observées chez les animaux âgés.

Il a paru, dès lors, nécessaire de définir l'état immunologique de la souche de souris PS en recherchant par comparaison avec les souris NZB l'existence d'une anémie hémolytique. Les résultats négatifs de cette enquête sont discutés dans la première partie de ce travail. La recherche d'anticorps anti-nucléaires est exposée ensuite.

* Pour la nomenclature utilisée, voir les deux appendices à la fin de ce travail.

La deuxième partie de l'exposé concerne l'étude des néphropathies observées chez les souris PS. Les dépôts d'immunoglobulines au niveau des glomérules rénaux sont appréciés en fonction de l'âge des animaux. Les anticorps anti-virus de Gross sont recherchés dans les éluats des reins. Enfin, l'étude histologique des lésions, les dépôts de substance amyloïde sont évalués en fonction de l'âge des animaux.

HISTORIQUE : LA SOUCHE DE SOURIS PS

ORIGINE.

Les souris de la souche PS sont des animaux albinos, de poids moyen 30 grammes.

L'élevage de cette souche a débuté en 1957 à partir d'un couple tout-venant obtenu d'un éleveur local qui avait réalisé, sans le savoir, des conditions de consanguinité relative. La femelle était porteuse d'une tumeur mammaire à l'âge de 6 mois. La souche est actuellement à la XLV^{e} génération de croisements entre frère et soeurs.

CARACTERISTIQUES DES SOURIS PS AU COURS DES 25 PREMIERES GENERATIONS.

La souche de souris PS était caractérisée par la présence spontanée de tumeurs mammaires et de leucémies. Les deux types de malignités étaient parfois associées chez le même animal (tableau I) (45)(56).

- Les tumeurs mammaires : 36% des femelles développaient à la 25ème génération des tumeurs mammaires. Les femelles multipares étaient plus atteintes que les vierges (tableau I). L'âge d'apparition de ce type de malignité était de 10 mois chez les multipares et de 13 mois chez les vierges.

. Microscopie optique : les tumeurs mammaires étaient des épithéliomas glandulaires dans lesquels on observait, à côté des régions tout à fait typiques, des plages plus ou moins larges de proliférations atypiques et même complètement indifférenciées (45)(46).

. Microscopie électronique : dans les tumeurs mammaires les particules virales observées appartiennent aux types A et B, selon la nomenclature de Bernhard (7). Les particules A intracytoplasmiques sont probablement les précursseurs des particules B. Ces derniers bourgeonnent au niveau de la membrane cellulaire.

PS F	Incidence globale de la malignité %	TUMEURS MAMMAIRES %			LEUCEMIES %			TUMEURS MAMMAIRES ET LEUCEMIES %
		Total	Vierges	Multipares	Total	Vierges	Multipares	
1 - 10 830♀	90	43	-	-	36	-	-	5
13 212♀	80	39	35	55	32	-	-	8
21 232♀	61	36	30	67	21	23	10	3
25 234♀	65	36	33	62	23	25	3	5
32 453♀	36	21	17	61	15	16	4	0
33 235♀	34	23	16	51	11	12	1	0
39 108♀	34,5	25	13	70	10	11	05	0

MANIFESTATIONS MALIGNES DES SOURIS DE LA SOUCHE PS AU COURS DES GENERATIONS

TABLEAU 1

- Les leucémies : 23% des femelles développaient des leucémies à la 23ème génération. L'âge moyen d'apparition de ce type de malignité était de 10 mois chez les multipares et de 14 mois chez les vierges. Ces dernières développaient plus de leucémies que les multipares (tableau I).

. Microscopie optique : il s'agissait le plus souvent de leucémies lymphoblastiques. La rate, les ganglions, le foie et les reins étaient la plupart du temps envahis par des cellules lymphoïdes souches. Le thymus, cependant, ne participait que rarement au processus.

. Microscopie électronique : dans les leucémies, les virus revêtaient l'aspect caractéristique décrit pour d'autres virus leucémiques murins, "type C" selon la nomenclature de Bernhard (7). Ces virus étaient observés dans les ganglions, la rate et la moëlle.

Ces virus se forment par un processus de "bourgeonnement" des membranes cytoplasmiques non seulement dans les cellules leucémiques (lymphoblastes surtout) mais aussi en grande abondance dans les mégakaryocytes comme c'est le cas dans la plupart des leucémies murines.

- Tumeur mammaire – leucémie : L'association tumeur mammaire – leucémie, chez la même souris, était plus fréquente chez les multipares que chez les vierges.

MODIFICATIONS DES CARACTERES DES SOURIS PS A PARTIR DE LA 25ème GENERATION.

Depuis la 25ème génération on observe chez les souris PS une diminution de la tumorigénèse spontanée (tableau I).

Si le pourcentage des tumeurs mammaires atteint encore 70% des femelles multipares à la 39ème génération, celui des leucémies est passé de 23% à la 25ème génération à 10% à la 39ème génération, en même temps que les néphropathies deviennent la cause principale des décès de toutes les souris non tumorales. L'âge moyen de la mortalité, à cette période, est de 12 mois.

. Microscopie optique : l'examen des reins, révèle des lésions plus ou moins sévères des glomérules. D'importants dépôts de substance amyloïde envahissent les glomérules et la papille.

. Immunologie : des études immunologiques effectuées par le laboratoire du Professeur LEVY (Hôpital Saint Louis - Paris) ont montré que les souris PS sont "G^+", c'est à dire qu'elles possèdent un antigène commun avec le virus leucémique de Gross (appendice II).

PREMIERE PARTIE

ANOMALIES SEROLOGIQUES AUTO-IMMUNITAIRES CHEZ LES SOURIS DE LA SOUCHE PS

DEFINITION DE LA MALADIE AUTO-IMMUNE.

On peut définir une maladie auto-immune comme une affection caractérisée par la production d'anticorps dits "auto-anticorps" qui réagissent spécifiquement contre certains constituants normaux de l'organisme (56)(87). Les réactions auto-immunitaires, que l'on peut observer chez l'homme et chez l'animal, reconnaissent comme élément responsable, soit l'auto-antigène en cause, soit le système immunitaire du sujet, soit les deux. On peut définir ainsi trois groupes de réactions auto-immunitaires :

- le premier groupe concerne les auto-antigènes naturels. Leur situation anatomique ne les met pas en contact avec la circulation lymphatique et le système immunitaire : ce sont des antigènes dits exclus. Ils sont naturellement antigéniques et ne nécessitent qu'un simple contact avec les centres immunologiques pour susciter une réaction auto-immune. C'est le cas de la myéline, des spermatozoïdes, du cristallin, etc... Ils sont sans rapport avec notre étude.

- le deuxième groupe concerne les auto-antigènes acquis ou induits. Ces auto-antigènes sont des substances qui normalement ne sont pas antigéniques, elles le deviennent après une dénaturation ou une modification d'origine chimique, microbienne ou virale. Ces modifications les rendent étrangères à leur propre organisme mais il subsiste des motifs antigéniques qui existent dans la molécule intacte. De sorte que le système immunitaire réagira contre cette substance modifiée mais aussi contre les molécules normales.

- le troisième groupe concerne les réactions auto-immunitaires consécutives à un dysfonctionnement du système immunitaire. Les auto-antigènes visés sont normaux, non modifiés ; ils subissent des réactions qu'ils n'ont pas induites. C'est le cas de la plupart des maladies auto-immunes rencontrées en clinique: anémie hémolytique, lupus érythémateux disséminé, etc...

L'un des modèles expérimentaux qui permet d'aborder l'analyse de certains problèmes posés par les groupes 2 et 3 est représenté par les souris NZB. Dans le présent travail, un tel

dysfonctionnement du système immunitaire est évoqué chez les souris PS. Nous tenterons, dans cette première partie, d'élucider si les souris PS développent une maladie auto-immune.

La maladie auto-immune traduite par la production d'anticorps anti-hématies est étudiée au chapitre I.

Le chapitre II expose les recherches effectuées pour détecter les anticorps anti-nucléaires dans le sérum des souris PS.

I.1 Chapitre I - L'ANEMIE HEMOLYTIQUE

I.1.1. - INTRODUCTION.

Bielchowsky en 1959 (9) décèle que les souris NZB développent une anémie hémolytique auto-immune. Cette maladie auto-immune n'apparaît jamais avant le 3ème mois chez ces souris. 50% sont atteintes à 7 mois et 100% à 1 an. C'est une anémie qui se traduit par la production d'auto-anticorps comme le révèlent les tests de Coombs directs et indirects. Mellors en 1965 (52) montre que les auto-anticorps anti-érythrocytes sont de la classe des immunoglobulines IgM mais, plus récemment, Warner et al. en 1968 (90) déterminent qu'il s'agit surtout d'immunoglobulines IgG. Ces anticorps réagissent non seulement avec les hématies des souris NZB, mais aussi avec celles des souris d'autres souches (52). Pour certains auteurs, il existe chez les souris NZB un anticorps capable de réagir avec les globules rouges humains (40). Nous allons étudier au cours de ce chapitre si les souris PS, comme les souris NZB, développent une anémie hémolytique.

I.1.2. - MATERIEL ET METHODE.

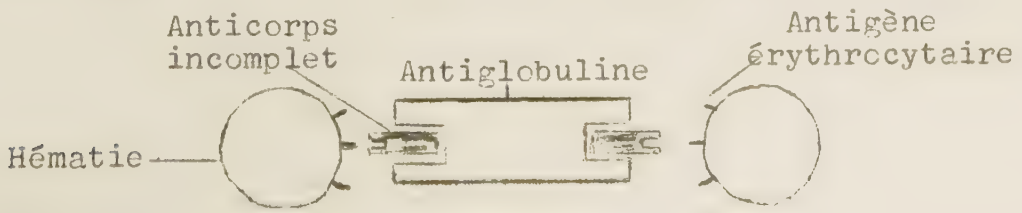
I.1.2.1. - Animaux : les auto-anticorps anti-hématies sont cherchés dans le sang des souris PS femelles à différents âges : 15 femelles sont âgées de 6 mois et 10 femelles sont âgées de 10 à 12 mois.

7 souris NZB âgées de 8 mois environ (2 femelles et 5 mâles) servent de témoins positifs.

10 souris Swiss servent de témoins négatifs.

I.1.2.2. - Tests de Coombs :

I.1.2.2.1. - Principe : des anticorps incomplets présents dans un sérum sont incapables d'agglutiner, en milieu salin, les hématies portant l'antigène correspondant. Ces anticorps se fixent cependant sur les hématies et leur fixation peut être mise en évidence par agglutination avec un sérum anti-globulines selon le schéma représenté ci-dessous.



La réaction de Coombs directe permet de savoir si les globules rouges que l'on examine sont revêtus d'anticorps qui peuvent être à l'origine de l'anémie hémolytique.

I.1.2.2.2. - Réactifs :

- le sang à examiner est prélevé à la queue des souris dans un tube à hémolyse contenant une solution à 3,8% de citrate de sodium.

- les sérums anti-globulines anti-souris utilisés proviennent de l'Institut Pasteur, des Laboratoires Hyland et de "Grenoble" (ce sérum a été préparé dans le laboratoire du Docteur Micouin). Ces sérums sont employés ainsi ou après avoir été absorbés sur des hématies de souris normales. Cette absorption permet d'éliminer les éventuels anticorps anti-hématies contenus dans ces sérums anti-globulines anti-souris et qui peuvent fausser la réaction.

- l'absorption des sérums anti-globulines anti-souris est effectuée sur des hématies de souris normales. Le sang est prélevé à la queue de 40 souris Swiss. Le culot globulaire est obtenu après dix lavages dans l'eau physiologique tamponnée et après une centrifugation à 1800 g pendant 10 minutes. Les sérums anti-globuline anti-souris sont décomplémentés à 56°C pendant 30 minutes. Dans chaque tube à hémolyse, 2 ml de sérum à tester et 3 ml de culot globulaire sont mis en contact par une agitation continue pendant une heure et demie. Après une centrifugation de 20 minutes à 1800 g les sérums sont récupérés et prêts à l'utilisation.

I.1.2.2.3. - Réaction : les globules rouges des différentes souris à tester sont mis en suspension dans l'eau physiologique tamponnée. Après une centrifugation de 500 g pendant 5 minutes, le surnageant est décanté. Cinq ou six lavages sont effectués. Après la dernière centrifugation on prépare, pour chaque échantillon, une suspension à 2%. Dans chaque série de tubes à hémolyse contenant deux gouttes de sérum anti-globuline anti-souris on ajoute deux gouttes de la suspension globulaire à 2%. On agite, on laisse en contact pendant un quart d'heure, puis on centrifuge à 500 g pendant une minute.

ANTIGLOBULINES			SOURIS NZB						
			♂	♂	♂	♂	♀	♀	♀
Institut Pasteur	non absorbées	1/3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		1/9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	absorbées	1/3	+++	—	—	(+)	+++	—	—
		1/9	+++	—	—	—	+++	+	+
Hyland	absorbées	1/3	—	—	—	—	—	—	—
		1/9	+++	—	—	—	+++	—	—
Grenoble	non absorbées	1/50	+++	—	—	—	++	—	—
		1/70	+++	—	—	—	++	—	—
	absorbées	1/9	+	—	—	(+)	—	—	—
		1/2	+++	—	—	—	+++	—	—

Importance du choix des antiglobulines et des dilutions utilisées dans le test de Coombs

tableau n° 1

I.1.2.2.4. - Lecture : 10 minutes après cette centrifugation, le tube est agité . La présence de l'agglutination et son intensité sont notées.

I.1.3. - RESULTATS.

L'utilisation du sérum anti-glogulinesanti-souris de l'Insitut Pasteur, non absorbé sur des hématies de souris normales, révèle des réactions de Coombs positives chez tous les animaux étudiés. Après absorption sur des hématies normales de souris, ce même sérum provoque encore quelques réactions de Coombs positives non spécifiques chez les souris Swiss et PS. Les contrôles effectués avec les sérums anti-globulines anti-souris préparés par les laboratoires Hyland et du Docteur Micouin, montrent que toutes les réactions de Coombs sont négatives chez les 25 souris PS et les 10 souris Swiss étudiées. Deux réactions de Coombs positives sont obtenues chez les souris NZB.

Le tableau 1' expose les résultats des réactions de Coombs obtenues chez les souris NZB. La lecture de ce tableau démontre qu'une très grande prudence est nécessaire pour conclure qu'une réaction de Coombs est positive. En effet, ces résultats établissent que le choix des sérums ainsi que leur mode d'utilisation sont d'un intérêt capital.

I.1.4. - CONCLUSION.

Contrairement aux souris NZB, les souris PS ne produisent pas d'auto-anticorps anti-hématies, c'est à dire qu'elles ne développent pas d'anémie hémolytique.

I.2. Chapitre II - LES ANTICORPS ANTI-NUCLEAIRES

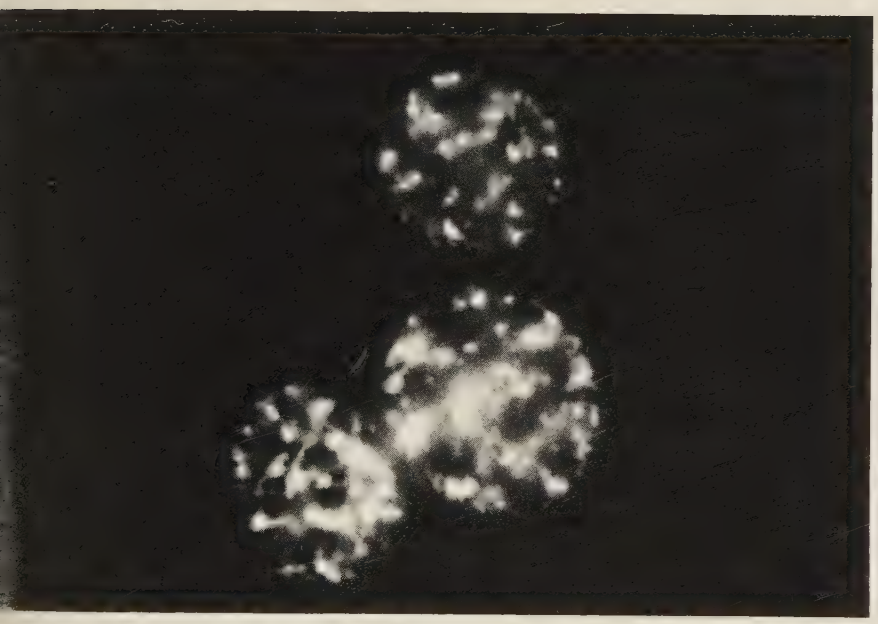
I.2.1. - INTRODUCTION.

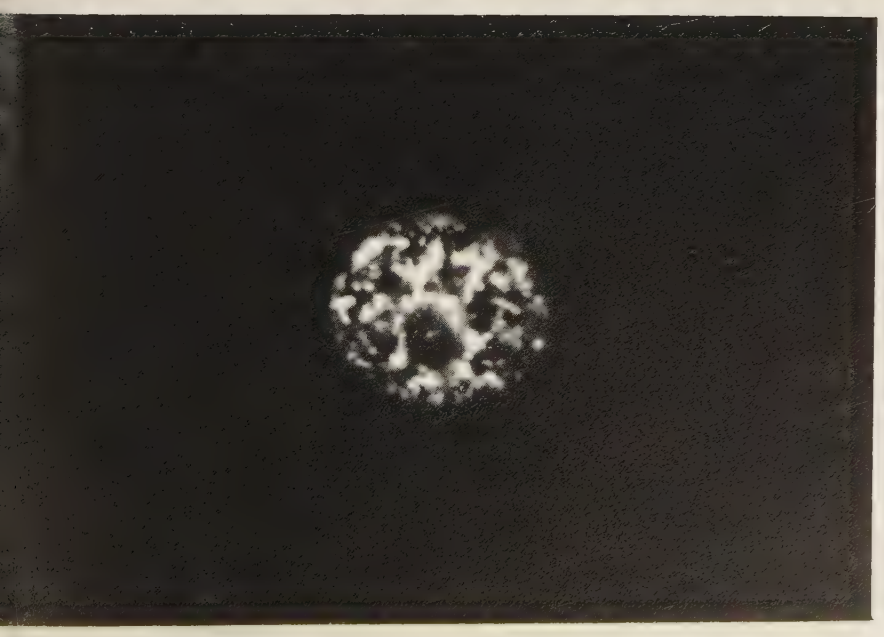
Dans le cas de ce type de maladie auto-immune, la cible antigénique est le noyau des cellules. Les anticorps anormaux, anticorps anti-noyaux, sont trouvés dans la circulation et des lésions rénales sont souvent présentes au cours de la maladie. La présence des anticorps circulants n'est pas pathogène en elle-même, c'est le dépôt de ces complexes antigène-anticorps solubles qui provoque des lésions rénales.

En clinique humaine, la présence des anticorps anti-nucléaires dans le sérum est recherchée systématiquement dans le lupus érythémateux disséminé (Seligman (77)(78) ; Siguier (79) ; Hewit (38) ; Robineaux (75) ; Grupper (30). La technique immunologique la plus couramment utilisée est l'immunofluorescence indirecte.

Cette technique simple et rapide permet d'observer en microscopie optique le premier temps obligatoire de toute réaction antigène-anticorps, à savoir la fixation des globulines anticorps sur toutes les structures antigéniques accessibles correspondantes. Seligman et Cannat (77) décrivent que la multiplicité des réactions immunologiques décelées par immunofluorescence est en partie démontrée par les différents aspects de fluorescence nucléaire que l'on peut observer. Ainsi, la planche I illustre les principaux aspects de nucléofluorescence observés en pathologie humaine :

- photo 1 : un aspect dit "périphérique". Cet aspect traduit la présence d'anticorps anti-ADN. La topographie de la nucléofluorescence semble correspondre à la disposition préférentielle de l'hétérochromatine dans les cellules interphasiques (82).
- photos 2 et 3 : les aspects dits granité et réticulo-granité, correspondent à la présence d'anticorps anti-composants non chromatiniens. Il s'agit dans ce cas d'anticorps anti-glycoprotéines ou lipoprotéines (5).
- l'aspect dit homogène est également bien observé en pathologie humaine. Cet aspect semble traduire la fixation d'an-





DIFFERENTS ASPECTS DES
ANTICORPS ANTINUCLEAIRES
CHEZ L'HOMME

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

1- Homogène à renforcement périphérique
(x1600)

2- Granité
(x1600)

3- Réticulo-granité
(x1600)

PLANCHE 1

ticorps anti-DNP (ADN associé à l'histone) (58).

En pathologie murine les anticorps anti-nucléaires ont été trouvés par plusieurs auteurs chez les souris NZB, rares pour les uns, 2 cas sur 43 pour Helyer et Howie (34) à qui revient le mérite de la première description : plus fréquents pour d'autres, 45% des cas après 2 mois pour Norins et Holmes (62). Par ailleurs, chez les hybrides NZB/NZW à partir de 6 mois ces souris développent 100% d'anticorps anti-nucléaires dans le sérum (McGiven 1968 (24)(25).

Il faut noter l'absence de toute spécificité d'espèce de ces anticorps anti-nucléaires.

I.2.2. - MATERIEL ET METHODE.

I.2.2.1. - Animaux : 5 souris PS âgées de 3 mois, 20 âgées de 7 mois et 32 âgées de plus de 12 mois sont étudiées pour la recherche des anticorps anti-nucléaires dans le sérum.

Les contrôles positifs sont obtenus à partir du sérum de 9 NZB âgées de 8 mois ; les contrôles négatifs à partir de 10 Swiss âgées de 8 mois.

I.2.2.2. - Immunofluorescence indirecte :

I.2.2.2.1. - L'antigène : des coupes à congélation de foie de rat normal sont séchées, puis fixées dans l'acétone à -20°C pendant 5 minutes. Le noyau des cellules hépatiques est l'antigène et permet la détection des anticorps anti-noyaux présents dans les sérums des souris.

I.2.2.2.2. - L'anticorps : les souris sont saignées à la queue. Après coagulation du sang à la température du laboratoire, on récupère le sérum. Les sérums sont dilués au 1/10^{e} et au 1/30^{e} dans l'eau physiologique tamponnée.

I.2.2.2.3. - La réaction : les coupes sont incubées avec le sérum des souris à étudier pendant 30 minutes à la température du laboratoire. Elles sont ensuite lavées pendant un quart d'heure dans l'eau physiologique tamponnée et elles sont à nouveau incubées pendant 30 minutes à la température du la-

boratoire avec le sérum anti-globulines anti-souris fluorescent. Cet anti-sérum est dilué au 1/50e et mélangé avec une solution de bleu d'Evans, dilué au 1/30000e. Le bleu d'Evans est un contre colorant qui émet une fluorescence rouge lors de l'observation aux rayons U.V. Les coupes sont lavées avec l'eau physiologique tamponnée pendant un quart d'heure, puis elles sont recouvertes d'une lamelle avec de la glycérine tamponnée. Les coupes sont alors observées au microscope Leitz adapté à l'observation en fluorescence.

I.2.3. - RESULTATS.

La planche 2 illustre l'aspect de la nucléofluorescence observée chez les souris PS. Cet aspect homogène de la nucléofluorescence est observé aussi en pathologie humaine et traduit la fixation d'anticorps anti-DNP (ADN associé à l'histone) (58).

Les résultats quantitatifs sont rassemblés dans le tableau 2. L'examen de ces valeurs permet d'observer que les souris Swiss n'ont pas d'anticorps anti-nucléaires dans leur sérum. Les souris NZB testées ont un taux qui se rapproche de celui que l'on trouve dans la littérature. En ce qui concerne les souris PS, aucun anticorps anti-nucléaire n'apparaît à 3 mois ; à 7 mois, la réaction est positive au titre de 1/10e dans 3 cas sur 20 ; à un âge supérieur à 12 mois, 12 cas sont positifs sur 32. A cet âge, dans 4 cas la réaction est positive au titre de 1/10e, dans 6 cas au titre de 1/20e et dans 2 cas au titre de 1/30e.

I.2.4. - DISCUSSION.

Des anticorps anti-nucléaires trouvés dans 3 cas sur 20, soit dans 15% des souris PS âgées de 7 mois et dans 12 cas sur 32, soit dans 35% des souris PS âgées de 12 à 14 mois, sont-ils le reflet d'une maladie auto-immune chez ces souris ? Une telle conclusion ne peut-être établie qu'à la suite de la comparaison de nos résultats avec ceux trouvés dans la littérature.

Friou (21), Norins (62) et Barnes (4) ont étudié plus de 20 lignées de souris dans le but d'établir le pourcentage des

ASPECT DES ANTICORPS ANTINUCLEAIRES
CHEZ LES SOURIS PS. (x900)

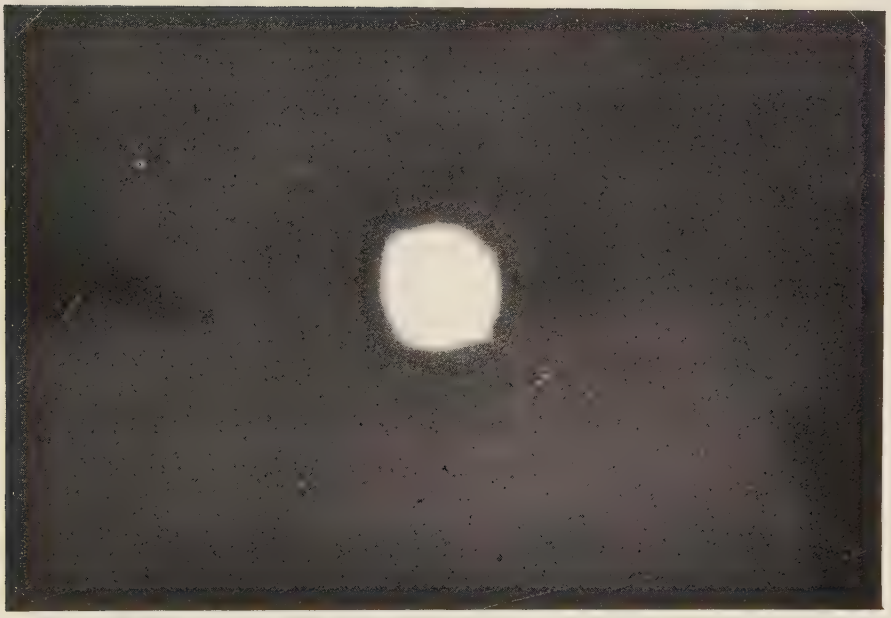


PLANCHE 2

Sérums étudiés		Total des positifs	Titres		
			+ 1/10	+ 1/20	+ 1/30 ou 1/50
PS	3 mois	0/5	0	0	0
	7 mois	3/20	3	0	0
	>12 mois	12/32	4	6	2
NZB	8 mois	4/9	0	1	3
SWISS	8 mois	0/10	0	0	0

Anticorps anti-nucléaires dans les sérums des souris PS, NZB et SWISS

tableau nº 2

animaux qui produisent spontanément des anticorps anti-nucléaires. Ils envisagent le rôle des facteurs favorisant les phénomènes d'auto-immunité. Ces auteurs constatent que, dans certaines lignées de souris, 10 à 12% des animaux âgés de 18 mois et plus produisent des anticorps anti-nucléaires. C'est le cas de la lignée C57Bl (appendice I). Les conditions d'élevage (température, nourriture, etc...) peuvent favoriser la production des anticorps anti-nucléaires. Ce dernier facteur explique l'hétérogénéité des résultats obtenus chez des animaux appartenant à une même lignée mais se trouvant dans des laboratoires différents. Ainsi, pour Norins (62) 45% des souris NZB produisent des anticorps anti-nucléaires, alors que Barnes (4) n'en trouve que 25%. Enfin, la production d'anticorps anti-nucléaires peut être une maladie génétique. Il existe des lignées de souris, les C3H/Bi par exemple (appendice I), qui ne produisent jamais, au cours de leur vie, d'anticorps anti-nucléaires ; par contre 85% des animaux de la lignée A/J en produisent (appendice I). La plupart des animaux de cette lignée de souris meurent de néphropathie.

Les recherches effectuées sur les souris PS âgées de 12 mois et plus, montrent que 35% des animaux ont des anticorps anti-nucléaires dans leur sérum. Ces résultats sont différents du pourcentage élévé (85%) trouvé chez les animaux de la lignée A/J, mais ils se rapprochent de ceux observés chez les NZB (45% - 25%). En outre, nos résultats obtenus chez les souris PS sont nettement supérieurs à ceux trouvés chez les animaux âgés de la lignée C57Bl.

Il est possible d'envisager que certains gènes déterminent la production d'anticorps anti-nucléaires, chez les souris PS, mais il semble que la seule prédisposition génétique ne suffise pas à expliquer la formation spontanée des anticorps anti-nucléaires (35). En effet, les souris NZW possèdent la capacité de répondre à des stimulations antigéniques de type ADN, mais ne développent pas spontanément de tels anticorps. Le rôle d'infections virales, en tant que stimuli antigéniques "spontanés", est suggéré par deux types d'observations (35) :

- l'infection néonatale des souris NZW par le virus du polyome ou le virus de la chorioméninyite lymphocytaire pro-

voque, après une latence de 10 à 14 mois, l'apparition d'anticorps anti-virus et d'anticorps anti-nucléaires associés à des lésions rénales.

- d'autre part, les lignées de souris développant spontanément des anticorps anti-nucléaires (NZB) présentent une double particularité : abondance de particules virales de type leucémique et capacité accrue à répondre à l'ADN.

Chez les souris PS on peut suggérer que le virus de la tumeur mammaire et, plus particulièrement, le virus de la leucémie soient le ou les stimuli antigéniques responsables de la production des anticorps anti-nucléaires observés dans le sérum de ces souris.

I.2.5. - CONCLUSION.

L'existence d'une maladie auto-immune chez les souris PS semble être confirmée par les résultats obtenus, 35% des souris PS femelles produisent des anticorps anti-nucléaires à partir de 12 mois.

Le rôle possible d'un virus, en l'occurence le virus leucémogène dans la maladie auto-immune, chez les souris PS, est évoqué. Il peut être en effet, soit directement responsable de l'auto-immunisation par son action sur le tissu lymphoïde, soit responsable d'un seul aspect de la maladie, voire l'atteinte rénale. La deuxième partie de ce travail tentera de montrer le rôle du virus leucémogène et des anticorps anti-nucléaires dans la pathogénèse des glomérulonérphrites chez les souris PS.

DEUXIEME PARTIE

ETIOLOGIE DE LA MALADIE RENALE CHEZ LES SOURIS PS

INTRODUCTION.

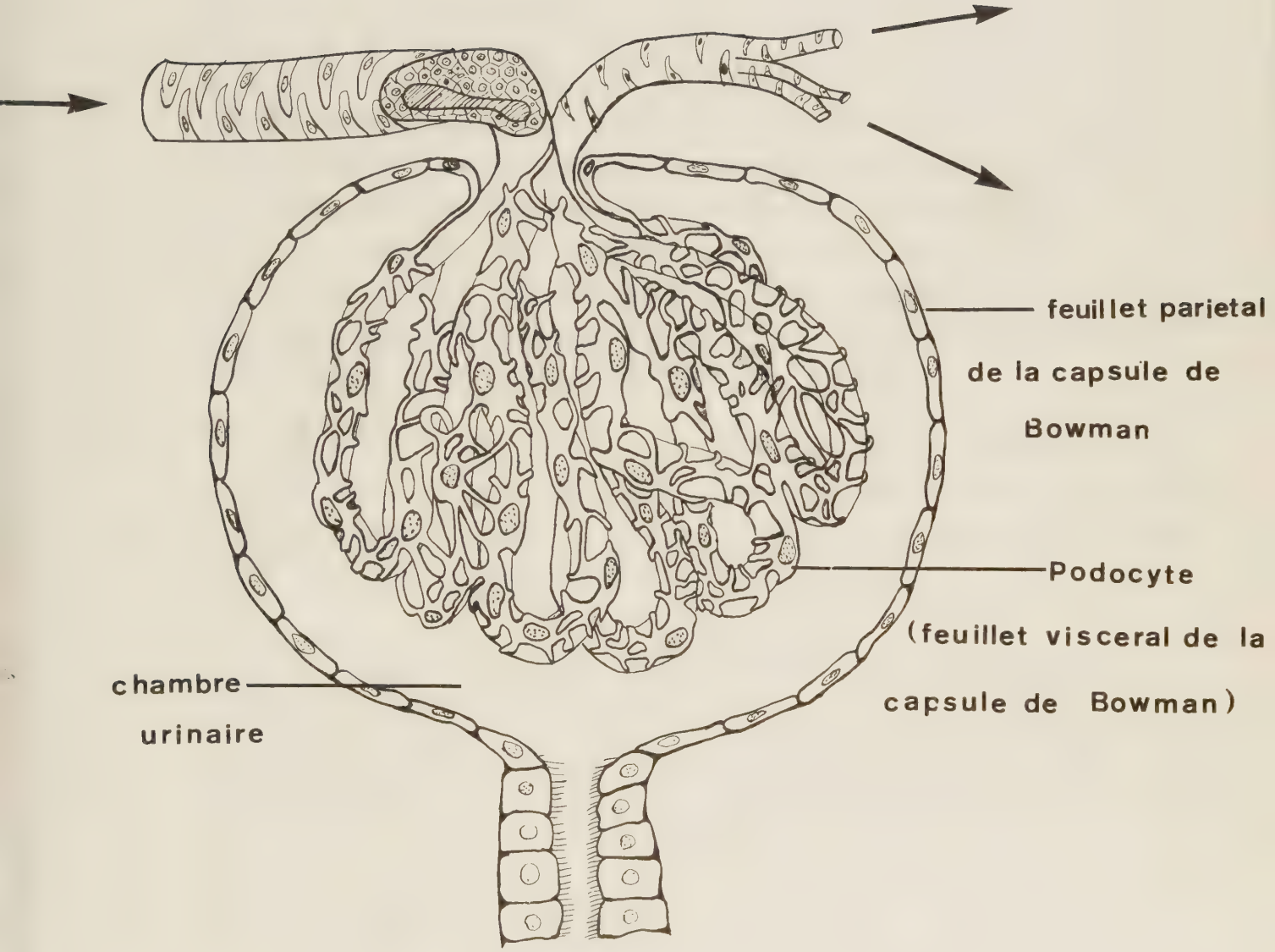
Alors que le pourcentage des leucémies, chez les femelles de la souche PS, est passé de 21% à la 21ème génération, à 10% à la 39ème génération, l'existence d'une maladie rénale est constatée par l'examen anatomique des reins. Ceux-ci sont généralement bosselés, hypotrophiques et de couleur jaune, plus ou moins pâle. Dans tous les cas, cette maladie est une des causes principales de la mort des souris (de 10 à 15 mois).

Il convient de souligner que le rein représente de par sa physiologie une cible privilégiée pour toute sorte de dépôts immuns. Rappelons très brièvement la physiologie du rein (planche 3). Le sang entre dans les vaisseaux capillaires du glomérule où il subit une filtration à travers la membrane basale. Le filtrat, appauvri en protéines, chemine entre les pédicelles des cellules épithéliales vers les tubes urinaires. Tout au long du trajet d'absorption et de sécrétion se forme l'urine définitive. Les reins reçoivent 1/5^{e} de la circulation du coeur et, à cause de la filtration du sang dans les glomérules, les anticorps ou les complexes "immuns", antigène-anticorps, se mettent en rapport très intime avec la membrane basale du glomérule. La meilleure preuve que les processus immunologiques sont impliqués dansla formation des lésions de la glomérulonéphrite est la localisation des γ globulines le long des membranes basales, des vaisseaux et des capillaires du glomérule. Mellors et Ortega en 1936 furent les premiers à montrer des dépôts de γ globulines dans les glomérules des reins et des malades atteints de glomérulonéphrite (51). Ils ont employé la technique des anticorps fluorescents.

Les recherches effectuées sur la souche de souris PS essaient de démontrer l'existence d'un dépôt de complexes immuns chez les souris âgées de 3 à 15 mois.

L'installation de ces lésions précèderait, dans le temps, les lésions anatomiques et histologiques de l'amylose. Ainsi nous nous proposons d'étudier :

- dans le chapitre I : la maladie à complexes immuns,
- dans le chapitre II : l'amylose.



SCHEMA D'UN CORPUSCULE RENAL

PLANCHE 3

II.1 Chapitre I - LA MALADIE A COMPLEXES IMMUNS

II.1.1. - INTRODUCTION.

En soulignant le rôle pathogène des complexes antigène-anticorps circulants et en réalisant une reproduction expérimentale de la maladie du sérum, l'école de Franck Dixon a ouvert un chapitre fondamental de l'immunopathologie (13). Les meilleurs modèles expérimentaux consistent, soit à injecter directement chez l'animal des complexes immuns, soit à leur injecter chaque jour une quantité d'antigène hétérologue calculée de manière à neutraliser des anticorps produits en réponse à une immunisation antérieure. Les lésions observées et, en particulier les lésions glomérulaires, sont dues au dépôt de complexes immuns. La maladie humaine dans laquelle le rôle pathogène des complexes immuns a été le plus nettement démontré est sans conteste le lupus érythémateux disséminé.

Chez les souris NZW, les complexes immuns "ADN-anti-ADN et antigènes viraux (leucémiques)-anticorps" ont été identifiés au niveau des glomérules rénaux. Ils sont la cause de la pathologie rénale bien particulière de ces souris.

Chez les souris PS, après avoir mis en évidence par la technique d'immunofluorescence directe un dépôt anormal de globulines au niveau des reins, nous tenterons de les éluer et de déterminer leur rôle anticorps : anticorps anti-virus de Gross (anti-G) et anticorps anti-noyaux.

II.1.2. - MATERIEL ET METHODE.

II.1.2.1. - Animaux : les reins des souris PS âgées de 3, 7 et 12 mois sont étudiés. Les reins des souris BALB/c servent de témoins.

II.1.2.2. - Histologie : les reins sont prélevés, puis sont fixés dans le Bouin Hollande. Après inclusion dans la paraffine, ils sont coupés puis colorés à l'hématoxyline, phloxine et safran.

II.1.2.3. - Immunofluorescence directe : les reins prélevés sont immédiatement congelés dans l'azote liquide. Les reins proviennent de 5 souris PS âgées de 3 mois, de 21 âgées de 7 mois et de 30 âgées de 12 mois. Les coupes obtenues, de 4 µ d'épaisseur, sont déposées sur des lames propres. Après séchage, ces coupes sont utilisées immédiatement ou, le plus souvent, stockées à -80°C. Après la fixation dans l'acétone pendant 10 minutes à -20°C ou pendant 15 minutes à la température du laboratoire, les coupes sont incubées avec le sérum antiglobulines anti-souris, dilué au 1/10e dans l'eau physiologique tamponnée, pendant 30 minutes. Le bleu d'Evans dilué au 1/30000e est toujours mélangé au sérum. Les coupes lavées trois fois pendant 5 minutes dans l'eau physiologique, sont montées dans la glycérine tamponnée et sont observées au microscope Leitz Ortholux adapté à la fluorescence.

II.1.2.4. - Elution des globulines fixées au niveau du glomérule rénal : de nombreuses techniques d'élution sont décrites par Branca (10), McGiven (25), Lambert (44) et Mellors (53)(54)(55). Elles reposent toujours sur le principe de la séparation des complexes antigène-anticorps en milieu acide.

Les reins de 25 souris PS âgées de 12 mois sont prélevés, coupés en petits morceaux dans du PBS et lavés 5 fois pour éliminer le sang. Le tissu est homogénéisé pendant 2 minutes. L'homogénéisation est pratiquée dans du PBS (20 ml de PBS pour 1 g de rein). On centrifuge la suspension à 1500 g pendant 15 minutes à 4°C. Le culot est lavé 3 fois dans ces conditions. Après ces centrifugations, le culot bien lavé est resuspendu dans une solution de citrate à 0,02M tamponnée à pH 3,2. La suspension est incubée à 37°C pendant 90 minutes ou à la température du laboratoire pendant 2 heures, avec une agitation constante. La suspension est ramenée à +4°C et à un pH 7,2-7,4 par addition d'une solution de NaOH à 2 N. Après une centrifugation de 15 minutes à 1500 g le surnageant est récupéré et filtré sur Diaflo. 0,5 ml d'éluat correspondent à un gramme de rein. La concentration de l'éluat peut être effectuée soit par précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium, soit par la filtration sur Diaflo (Mellors). La filtration sur Diaflo a été utilisée dans ce travail, c'est un pro-

cédé plus rapide et plus facile mais les éluats ne sont pas aussi purs que ceux obtenus par la précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium.

II.1.2.5. - Contrôle de l'activité anti-G de l'éluat : la présence des anticorps anti-G (anti-leucémique) est contrôlée par immunofluorescence indirecte en utilisant des suspensions de cellules vivantes E♂G2.

Les cellules E♂G2 : proviennent d'une leucémie induite chez les souris mâles de la lignée C57Bl/6 par le virus du passage A de Gross (appendice II) et sont inoculées à ces souris depuis plusieurs générations. Les cellules leucémiques E♂G2 sont porteuses, au niveau de leur membrane cellulaire, de l'antigène de Gross G^+ (appendice II). Elles sont utilisées comme cellules de référence G^+.

Les suspensions de cellules leucémiques E♂G2 sont préparées à partir de la rate des souris C57Bl/6 porteuses des greffes de cellules E♂G2 (2). Les cellules sont lavées une fois et suspendues dans de l'eau physiologique tamponnée et distribuées dans des tubes à hémolyse (2×10^6 cellules par tube). Après une centrifugation de 5 minutes à 800 g, les cellules sont mises en suspension dans 0,05 ml d'éluat et sont incubées à la température de la pièce pendant 30 minutes. Les cellules sont alors lavées 3 fois dans l'eau physiologique tamponnée et sont suspendues dans 0,05 ml dans le sérum anti-globulines fluorescents anti-souris (Laboratoires Hyland). Après incubation pendant 20 minutes à la température de la pièce, les cellules sont lavées 2 fois et examinées au microscope Leitz adapté à la fluorescence, (filtre excitateur BG12, filtre d'arrêt et condenseur à fond noir à immersion). La présence des anticorps est indiquée par différents degrès de fluorescence au niveau de la membrane des cellules vivantes. L'anneau complet, à forte fluorescence, n'a jamais été observé car il y a dans la plupart des cas une migration des complexes antigène-anticorps à l'un des pôles de la cellule.

Les éluats de reins de souris BALB/c mis en contact sur des cellules vivantes E♂G2 sont utilisés comme témoins négatifs.

Enfin, pour éliminer toutes réactions non spécifiques, les éluats des reins de souris PS sont contrôlés par immunofluorescence indirecte sur des cellules G^-.

Ces cellules G^- ou cellules EL4, ne possèdent pas au niveau de leur membrane cellulaire l'antigène de Gross : G^+. Ces cellules proviennent d'une leucémie ascitique induite chez les souris femelles de la lignée C57Bl/6 par le méthylcholanthrène et sont greffées chez ces souris depuis plusieurs générations. Les cellules de cette leucémie sont utilisées comme référence G^-.

II.1.2.6. - Contrôle de l'activité anti-noyaux de l'éluat : la technique utilisée est l'immunofluorescence indirecte. Elle est décrite dans le chapitre des anticorps anti-nucléaires.

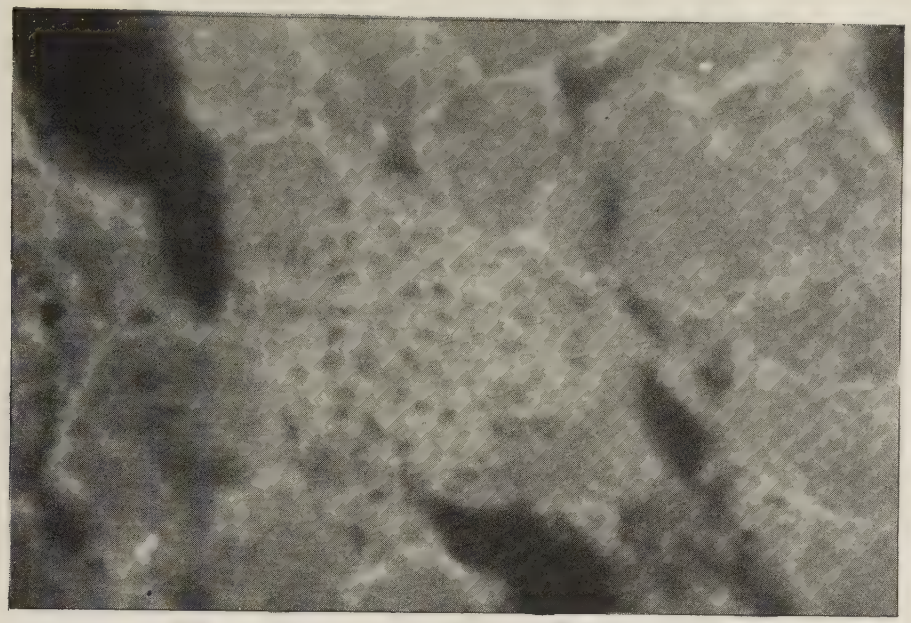
II.1.3 - RESULTATS

II.1.3.1. - Histologie : aucune lésion glomérulaire n'est observée sur les coupes histologiques des reins des souris PS âgées de 3 et 7 mois. Par contre, l'observation des glomérules rénaux des souris PS âgées de 12 mois et plus, révèle un épaississement de la membrane basale et l'apparition d'une masse amorphe pouvant envahir quelquefois tout le glomérule. Cette substance "amyloïde" est présente au niveau des glomérules rénaux de toutes les souris PS âgées de 12 mois. Elle succède à la formation des dépôts de complexes immuns exposés dans ce chapitre et sera étudiée au chapitre suivant.

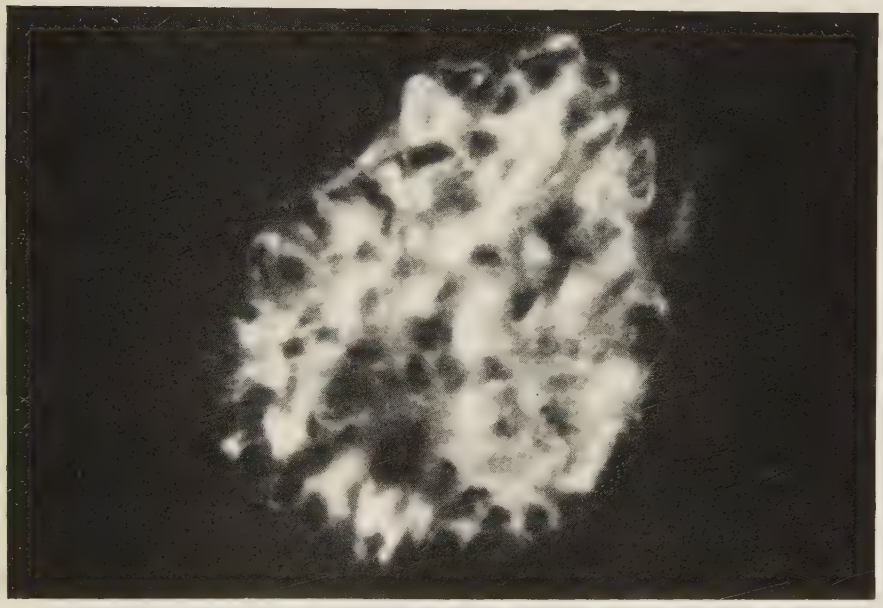
L'aspect "amyloïde" des glomérules rénaux des souris PS âgées de 12 mois est très différent de l'aspect lupique décrit chez les souris NZB (1).

II.1.3.2. - Immunofluorescence directe : le tableau récapitulatif n°4, établit les résultats obtenus chez les souris PS. La présence d'un dépôt anormal de γ globulines au niveau des glomérules est observé dès 3 mois chez 3 souris sur 5 examinées. A 7 mois, chez 20 souris sur 21, les dépôts de γ globulines sont nettement localisés contre la membrane basale, puis ces dépôts s'étendent progressivement autour des capillaires (planche 4) pour envahir tout le glomérule. A 12 mois, tous

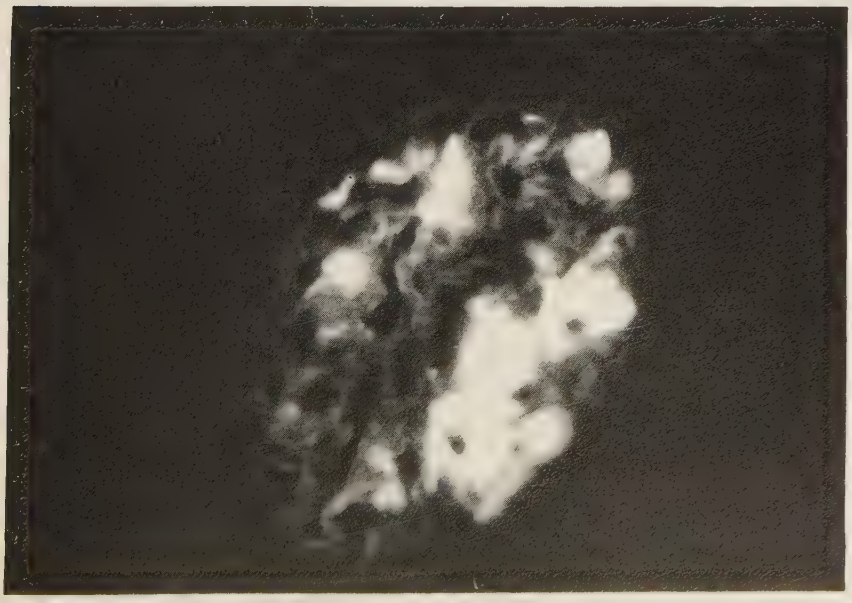
DETECTION DE DEPOTS DE GLOBULINES AU NIVEAU DU GLOMERULE RENAL PAR IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE.



Souris BALB/c 12 mois
(témoin négatif).
(x1000)



Souris PS 7 mois.
(x1200)



Souris PS 11 mois.
(x1200)

PLANCHE 4

les glomérules de 30 souris PS étudiées sont envahis par des γ globulines.

Par contre, les dépôts de γ globulines, quand ils existent, chez les souris BALB/c sont très peu importants (planche 4). Ils s'expliquent par le rôle de filtre que joue le glomérule.

II.1.3.3. - Détection des anticorps anti-G dans l'éluat : la recherche des anticorps naturels anti-G présents dans l'éluat des reins des souris PS âgées de 12 mois, est effectuée par la technique d'immunofluorescence indirecte sur des cellules E♂G2 vivantes. La planche 5 illustre les résultats obtenus. La présence des anticorps anti-G dans l'éluat est révélée par une fluorescence au niveau de la membrane cellulaire. La fluorescence continue, en anneau, au niveau de la membrane des cellules E♂G2 n'a jamais été observée car il y a, dans la plupart des cas, une migration des complexes antigène-anticorps à l'un des pôles de la cellule (2). En effet, l'influence de la température est en partie responsable de la labilité de ces complexes (2). Les différents temps de la migration des complexes antigène-anticorps peuvent être observés à la planche 5. Le premier temps de cette migration se manifeste par une discontinuité de la fluorescence au niveau de la membrane cellulaire (photo 1) et se traduit, dans un deuxième temps, par une fluorescence localisée à un pôle de la cellule (photo 2).

Le contrôle en immunofluorescence indirecte de ce même éluat, sur des cellules EL4, a été négatif. De même, les contrôles des éluats de reins des souris BALB/c ont été aussi bien négatifs sur les cellules E♂G2 (cellules leucémiques, Gross positif) que sur les cellules EL4 (cellules leucémiques, Gross négatif).

II.1.3.4. - Détection des anticorps anti-nucléaires dans l'éluat : la technique d'immunofluorescence indirecte n'a pas permis de mettre en évidence des anticorps anti-nucléaires dans les éluats préparés à partir des reins des 25 souris PS âgées de 12 mois, étudiées dans ce travail.

PHOTO : 1

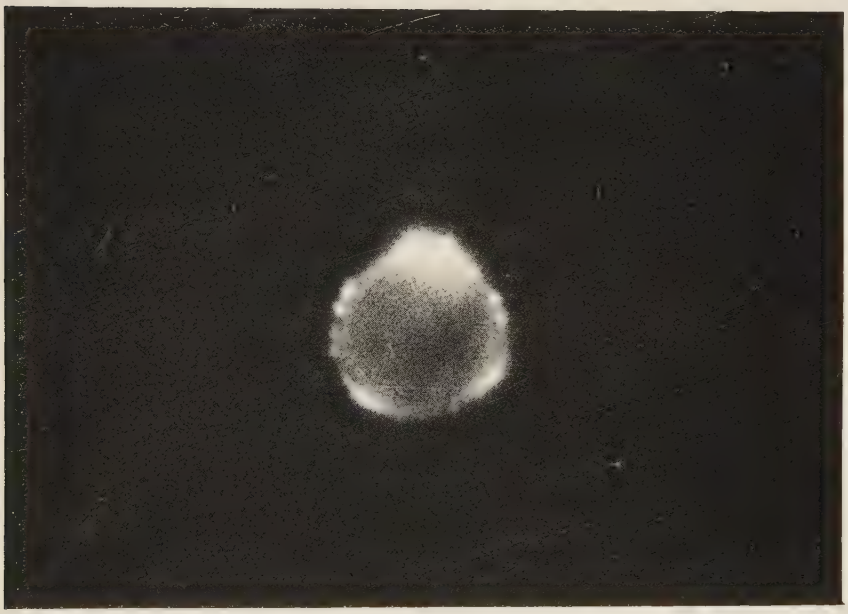


PHOTO : 2

Mise en évidence par immunofluorescence indirecte des anticorps G^+ contenus dans l'éluat des reins des souris PS âgées de 12 mois sur des cellules non fixées E♂G2 (x1000).

PLANCHE 5

Le pourcentage des souris PS développant des anticorps anti-nucléaires (35% des souris PS âgées de 12 mois) et le faible titre de ces anticorps anti-nucléaires (1/20, première partie de ce travail, chapitre II) sont probablement responsables de l'échec obtenu. En outre, il est possible que la technique d'élution effectuée dans ce travail n'ait pas permis de dissocier les complexes antigène-anticorps, ou bien qu'il y ait eu recombinaison de l'antigène avec l'anticorps. Des expériences complémentaires seront utiles pour confirmer ces résultats.

II.1.4. - DISCUSSION ET CONCLUSION.

Les premières observations présentées ici montrent que les glomérules rénaux des souris PS sont le lieu d'un dépôt anormal de globulines. Chez les souris PS âgées de 12 mois, l'élution de ces globulines a permis d'en définir une de leur fonction : la fonction anticorps anti-virus de Gross, plus précisément la fonction anti-G. Ce résultat suggère que l'un des agents de l'étiologie des glomérulonéphrites des souris PS est le virus leucémique.

L'implication des virus leucémiques murins dans la pathogénèse des glomérulonéphrites est décrite par de nombreux auteurs. Recher et al. (73) montrent que les souris AKR, génétiquement infectées par le virus leucémique de Gross, présentent quelques glomérulonéphrites. Le taux des glomérulonéphrites augmente chez ces souris quand elles sont infectées expérimentalement par les virus leucémiques de Friend et de Rauscher. De même, les BALB/c infectées par les virus leucémiques du passage A de Gross, de Friend et de Rauscher développent des glomérulonéphrites. Ces auteurs n'ont cependant pas élué le facteur responsable de ces glomérulonéphrites. Plus récemment, Hirsh et al. 1969 (39) et Branca et al. 1971 (10) infectent des souris BALB/c âgées de 18 heures avec le virus leucémique de Moloney (MLV) et le virus du sarcome de Moloney (MSV) ; ces souris développent des glomérulonéphrites. Ils observent chez ces souris, ainsi que chez les souris infectées verticalement par le lait avec le MLV, la présence d'anticorps anti-virus MLV ou MSV dans la circulation et la formation d'un complexe "virus-anticorps anti-virus" au niveau des reins. Ces résultats prouvent que les

nouveaux-nés ne sont pas tolérants au virus. Mellors et al. (54) (55) montrent que les souris NZB/NZW infectées génétiquement par le virus de Gross ne sont pas tolérantes au virus et forment des anticorps contre les antigènes du virus de Gross. L'auteur trouve, dans l'éluat des reins, des anticorps anti-G. De même, Tonietti, Oldstone et Dixon (85) et Dixon et Oldstone (14) éluent à partir des reins des souris NZ (NZB, NZB/NZW) des anticorps anti-virus de Gross.

Cependant, bien d'autres infections virales de la souris peuvent être impliquées dans la pathogénèse des glomérulonéphrites. Oldstone et Dixon (64)(65) observent que les souris A/J; AKR et C3H ne sont pas tolérantes au virus de la choriméningite lymphocytaire (LCM). Des complexes antigène-ancticorps (LCM-anti-LCM) sont trouvés dans la circulation et au niveau des glomérules. De même, des complexes immuns sont observés aussi bien dans la circulation qu'au niveau des glomérules, quand ces animaux sont infectés par le virus de la déshydrogénase lactique (LDV) ou par le polyome (85). De tels complexes sont observés dans la maladie aleutienne du vison (68)(69).

Les résultats ainsi trouvés dans la littérature suggèrent que toutes les infections virales de la souris peuvent induire la formation de complexes immuns dont le dépôt au niveau des glomérules peut être responsable des glomérulonéphrites.

Chez les souris PS, nous avons essayé de chercher si le virus leucémique, virus de Gross, était susceptible de jouer un rôle dans la pathogénèse des glomérulonéphrites. Nous avons pu montrer la présence d'anticorps anti-virus de Gross, "anti-G", dans les éluats des reins des souris âgées de 12 mois, sur des cellules E♂G2 vivantes.

La présence de l'antigène "G$^+$" n'a pas été mise en évidence du fait de la grande difficulté à se procurer du sérum spécifique anti-G. Cependant, il est probable que l'anticorps "anti-G" soit lié à l'antigène "G$^+$" au niveau du glomérule rénal et que la formation de ce complexe immun soit l'un des facteurs responsables du développement des glomérulonéphrites chez les souris PS.

Il est possible que d'autres complexes immuns soient impliqués dans ces glomérulonéphrites. Chez les souris PS, on pourrait soupçonner la part jouée par d'autres virus murins tel que le virus de la tumeur mammaire.

Le but de cette étude ne nous a pas permis d'aller plus loin dans cette investigation et, seule l'appréciation qualitative d'un "complexe immun" impliquant le virus de Gross au niveau des reins des souris PS, a été étudiée.

L'observation des dépôts d'immunoglobulines dans les reins des souris PS, précédant les dépôts amyloïdes, devrait peut-être nous conduire à comprendre l'installation de cette néphrose chez ces animaux et à rechercher l'éventuelle relation entre ces évènements.

II.2 Chapitre II - L'AMYLOSE

II.2.1. - INTRODUCTION.

En 1842, Rokitansky (76) dans un "Traité sur les anomalies du foie" décrit une maladie dans laquelle cet organe est infiltré par une substance "amorphe" qui, de temps en temps, infiltre la rate. Depuis, de nombreux auteurs décrivent que cette substance peut atteindre les reins et l'appareil digestif. Virchow en 1854 (89) montre la présence d'une substance amylacée dans le système nerveux. Il donne à cette substance "lardacée" et "amorphe" le nom de substance amyloïde. La substance amyloïde est déposée dans les organes. Elle est trouvée aussi bien chez l'homme que chez les animaux. L'amylose peut se développer spontanément, sans association avec une maladie ou en relation avec une grande variété de maladies infectieuses aussi bien chez l'oiseau que chez les mammifères. L'étiologie de l'amylose est actuellement mal connue.

II.2.2. - MATERIEL ET METHODE.

II.2.2.1. - Matériel : les dépôts amyloïdes sont cherchés dans les rate, foie et reins des souris PS. 5 souris âgées de 3 mois, 21 âgées de 7 mois et 16 âgées de 12-14 mois sont étudiées.

II.2.2.2. - Méthode : les dépôts amyloïdes dans les différents organes sont détectés par une coloration histologique, la Thioflavine T. Nebut et Hartman 1966 (61) montrent que l'introduction de la Thioflavine T dans l'identification de l'amylose répond à toutes les exigences du diagnostic : fidélité de la réaction, spécificité de la coloration et détection des lésions extrêmement réduites.

Les animaux sont tués. Les organes sont fixés au formol neutre à 10%, puis inclus dans la paraffine. Ils sont coupés à 4 µ au microtome et sont déposés sur des lames. Les coupes sont ensuite colorées à l'hématoxyline, différenciées à l'HCl à 1% et colorées à la Thioflavine T en solution à 1%, pendant 3 minutes. Elles sont rincées à l'eau acétique à 1% pendant 10 minutes et montées dans le glycérol. La lecture se fait en lumière ultraviolette dans les mêmes conditions que pour les lectures d'immunofluorescence.

L'amylose présente une flucrescence gris argenté, jaune ou verte. Il est très important de colorer les coupes à l'hématoxyline. En effet, cette dernière provoque une extinction de la fluorescence spontanée des noyaux, ce qui facilite beaucoup la lecture des préparations surtout lorsqu'il s'agit de tissus très cellulaires comme la rate. En l'absence de cette précaution, la brillance de très nombreux noyaux risque de masquer une amylose discrète.

II.2.3. - RESULTATS.

La rate : l'aspect macroscopique des rates à l'autopsie est normal.

La coloration histologique classique (hématoxyline, phloxine, safran) utilisée couramment, a permis de découvrir des dépôts amyloïdes importants dans les rates des souris PS âgées de 12 mois et plus. Ces dépôts amyloïdes, colorés en jaune et les cellules amyloïdes forment un anneau plus ou moins épais autour des follicules lymphoïdes. Les cellules amyloïdes sont volumineuses, le cytoplasme présente un aspect strié et jaune pâle. Le noyau excentré est souvent pycnotique. Aucune structure cellulaire, autre que les cellules amyloïdes, n'est visible dans cette région périfolliculaire au niveau de ces rates provenant des souris PS âgées. Par contre, l'examen des rates des souris PS âgées entre 7 et 10 mois, colorées par ce procédé, révèle dans cette même région des réactions réticuloplasmocytaires et une érythrophagocytose anormalement importante. Ces phagocytes sont des cellules réticulaires. Ce sont de grosses cellules dont le noyau, généralement excentré, se réduit et devient pycnotique. Son dessin chromatinien perd ses caractères typiques, son nucléole s'estompe, puis disparaît. Son cytoplasme est chargé de masses orangées de taille variable représentant les hématies (photo 2, planche 6).

A côté de ces érythrophagocytes nous observons des cellules qui sont probablement des cellules amyloïdes "jeunes" mais dont l'identification est difficile du fait que les dépôts amyloïdes, présents en faible quantité, ne sont pas mis en évidence par cette coloration.

L'observation de ces mêmes rates colorées par la technique de Mann Dominici (50) qui a le privilège de colorer finement la chromatine et les granulations basophiles intracytoplasmiques, a montré ces mêmes aspects cytologiques (photos 2 et 3, planche 6).

Souris PS / Organes		3 mois	7 mois	12 mois
Rate		0/5	9/18	16/16
Rein	papille	0/5	3/18	15/16
	glomérules		0/18	15/16
Foie		0/5	0/18	9/16

Localisation des dépôts amyloïdes chez les souris PS à différents âges (nombre de souris positives / nombre de souris testées)

tableau n° 3

Ces deux colorations laissent soupçonner un processus pathologique qui représente peut-être l'amylose à son stade initial. C'est alors que la coloration à la Thioflavine T prend un grand intérêt car elle peut mettre en évidence les plus petits dépôts amyloïdes éventuellement présents dans ces rates.

Deux types de fluorescence, l'un vert brillant et l'autre jaune pâle, sont observés. Ces fluorescences différentes, bien visibles et contigues apparaissent d'abord éparpillées en petites plages dans la région périfolliculaire chez les souris PS âgées de 7 mois, puis ultérieurement elles entourent complètement les follicules lymphoïdes des souris PS âgées de 7 à 10 mois (planche 6, photo 1). Finalement, chez les souris PS âgées de 12 mois et plus, seule la fluorescence verte et brillante est observée. Elle s'étend largement autour des follicules lymphoïdes et envahit la pulpe rouge.

Pour Nebut et Hartman ces deux types de fluorescence correspondent à la substance amyloïde (61). Chez les souris PS, la comparaison des coupes de rates colorées par la Thioflavine T avec celles colorées par les colorations histologiques classiques, citées ci-dessus, montre que la fluorescence jaune correspond aux érythrophagocytes et la fluorescence verte à la substance amyloïde (photo 1, planche 6). Celle-ci semble être extra-cellulaire dans les rates des souris PS âgées de 7 mois et intra et extra-cellulaire dans les rates des souris âgées de 12 mois et plus.

Il est possible que les cellules érythrophagocytaires soient impliquées dans la génèse de l'amylose du fait de leur contiguité avec les cellules amyloïdes, mais nous ignorons l'origine de cette éventuelle relation.

Chez les souris PS, l'amylose semble débuter dans la rate (tableau 3) et, plus précisément, dans cette zone périfolliculaire.

Les reins : à l'autopsie les reins apparaissent généralement bosselés, hypotrophiques et de couleur jaune.

Au niveau de cet organe, les dépôts amyloïdes détectés par la coloration à la Thioflavine T émettent une fluorescence verte très caractéristique. Ces dépôts sont observés d'abord au niveau de la papille, dans les espaces intertubulaires, chez 3 souris PS sur 15 examinées à l'âge de 7 mois. Chez les souris âgées de

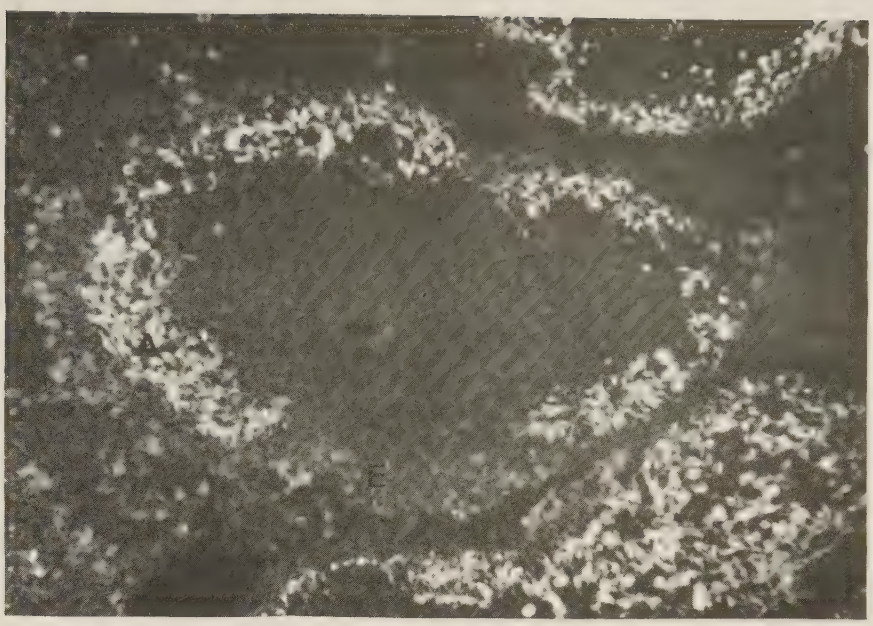
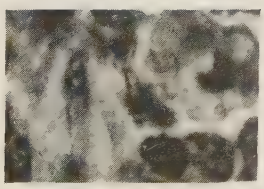


Photo 1 - Localisation des dépôts amyloïdes (A) et des régions d'érythrophagocytose (E) dans la rate d'une souris PS âgée de 10 mois. Coloration : Thioflavine T. (x 300).



hoto 2 - Erythrophagocyte. Coloration : Mann Dominici. (x 1000).

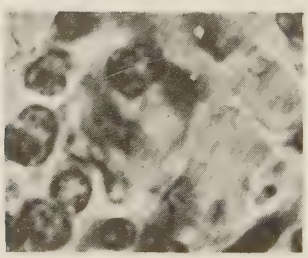
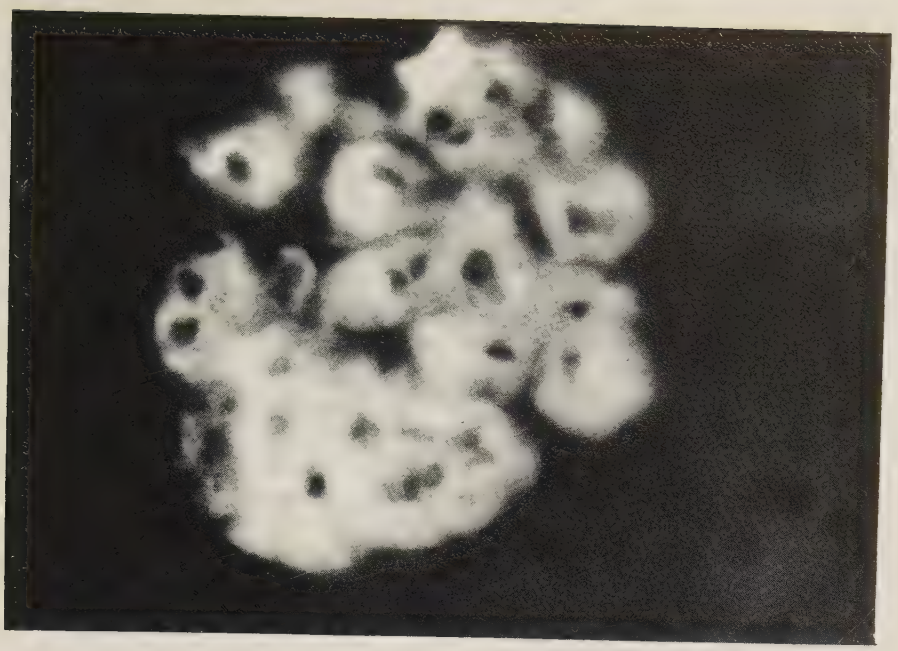


Photo 3 - Cellule amyloïde. Coloration : Mann Dominici. (x 1000).



Dépôt de la substance amyloïde au niveau d'un glomérule rénal chez une souris PS âgée de 12 mois (x1200). Coloration : Thioflavine T.

Infiltration de la substance amyloïde au niveau de la papille rénale chez une souris PS âgée de 12 mois (x1200). Coloration Thioflavine T.

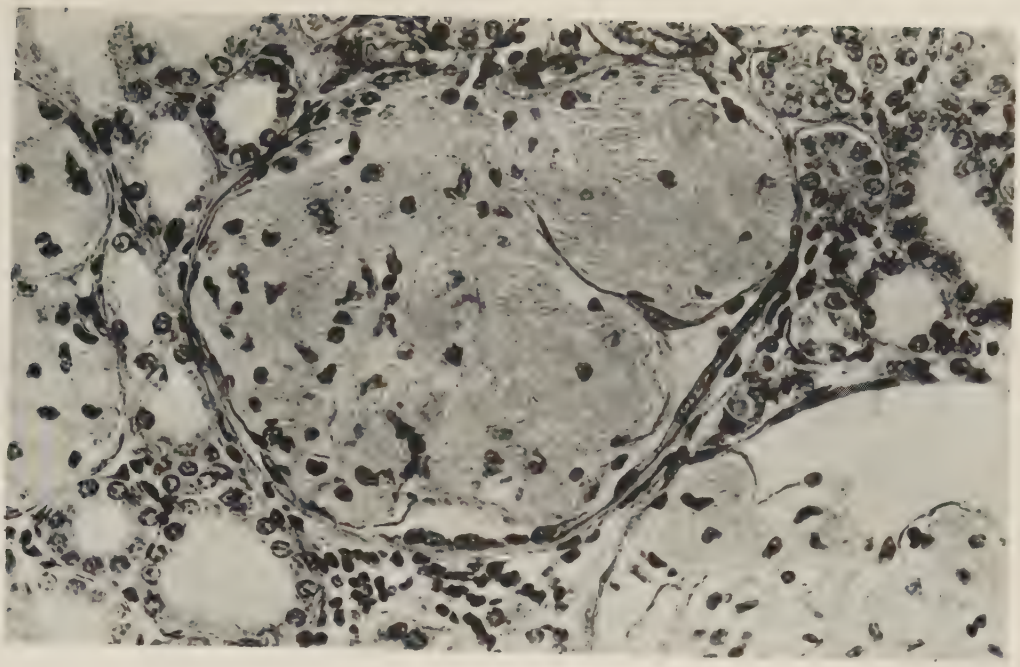


Photo 1 - Aspect d'un glomérule rénal envahi par la substance amyloïde chez une souris PS âgée de 13 mois. COloration : Hématoxyline, Phloxine, Safran. (x 1200)

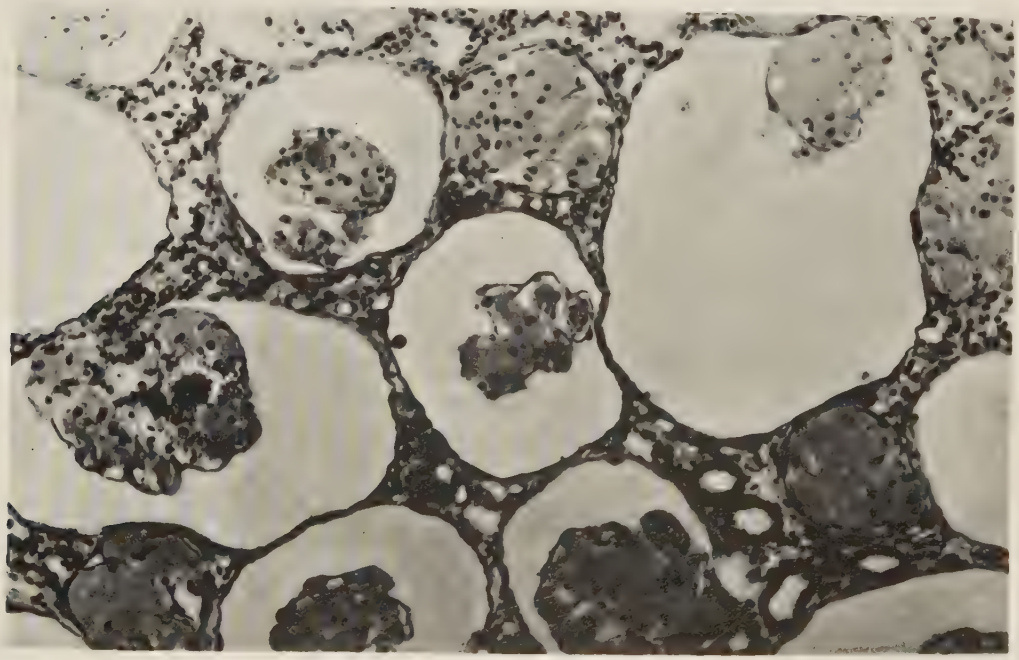


Photo 2 - Aspect typique de la zone corticale d'un rein amyloïde chez une souris PS âgée de 13 mois. Coloration : Hématoxyline, Phloxine, Safran. (x 600).

12 mois et plus, les dépôts envahissent largement la papille et la plupart des glomérules chez 15 souris sur 16 examinées (tableau 3) (planche 7).

La coloration histologique classique (hématoxyline, phloxine, safran) montre la présence de nombreux ilots lymphoplasmocytaires et permet de préciser les modifications structurales apparues au niveau de la papille et des glomérules.

La substance amyloïde colorée en jaune par cette coloration, semble être localisée, au niveau de la papille, dans les parois des capillaires intertubulaires. De même, au niveau des glomérules elle se dépose entre la membrane basale et des cellules endothéliales des capillaires. Ces derniers sont rapidement obstrués et deviennent non fonctionnels. La filtration, au niveau du glomérule, est altérée. Celui-ci n'est plus qu'une masse astructurée, jaune, dans laquelle nous observons quelques noyaux. Très souvent la membrane basale du feuillet pariétal de la capsule de Bowman est épaissie par des infiltrations de substance amyloïde (photo 1, planche 8).

A un stade ultérieur les glomérules, totalement atrophiés, semblent pendre dans la chambre urinaire fréquemment dilatée. La photo 2 (planche 8) illustre cet aspect typique d'un rein amyloïde d'une souris PS âgée.

Le foie : à l'autopsie les foies semblent normaux.

Chez les souris PS le foie n'est atteint que très tardivement. Les dépôts amyloïdes sont essentiellement trouvés chez 9 souris sur 16 examinées alors qu'elles sont âgées de 12 mois et plus (tableau 3). Les colorations à la Thioflavine T et à l'hématoxyline, phloxine, safran, montrent que ces dépôts sont essentiellement localisés dans la paroi des vaisseaux et des capillaires radiés. Nous n'avons pas observé de fluorescence cytoplasmique des cellules de Kupffer par la coloration à la Thioflavine T.

II.2.4. - DISCUSSION.

Depuis longtemps l'amylose spontanée a été observée par de nombreux auteurs chez la souris. Certaines souches sont promptes à développer l'affection (souche A) d'autres pas (souche C3H). Des expériences d'hybridation entre ces souches ont montré

l'importance du facteur génétique dans le développement de la maladie. Seul un gène récessif est en jeu (15)(36).

Expérimentalement, l'amylose est obtenue, chez la souris, par des injections répétées de caséine (47), de bactéries (43), d'acide ribonucléique (33), etc...

Dès 1859, des études concernant la composition chimique de l'amylose ont été entreprises par Friedreich et Kekulé (20). Pour ces auteurs la substance amyloïde serait une protéine. Cette hypothèse est confirmée par les récents travaux de Glenner (26) (27) et de Benditt (6). Ils établissent que la substance amyloïde est représentée dans les tissus par des fragments protéiniques d'immunoglobulines. Glenner précise que la substance amyloïde dérive de certaines régions des chaines légères d'immunoglobulines. En effet, l'auteur montre qu'il peut créer, in vitro, dans des conditions physiologiques par digestion protéolytique de chaines légères d'immunoglobulines "protéine de Bence Jones" des fibres dont les propriétés tinctoriales, ultrastructurales et cristallographiques sont analogues à celles des fibres amyloïdes.

Cette origine des fibres amyloïdes peut suggérer le rôle du système immunitaire dans l'étiologie de l'amylose. Ainsi, est-il possible d'envisager, chez les souris PS, qu'un dysfonctionnement de leur système immunitaire peut être impliqué dans la génèse de l'amylose.

La possibilité d'une relation entre amylose et système immunitaire est suggérée déjà en 1902, puis en 1931 par Magnus-Levy (48)(49). Il décrit l'association très fréquente de l'amylose et des protéines de Bence Jones chez les malades atteints de myélome . Apitz (1940) (3) implique le système immunitaire dans l'étiologie de l'amylose. Pour cet auteur, les dépôts amyloïdes représentent la précipitation de protéines anormales du sérum au niveau des tissus. Osserman en 1964 (67) reprend cette théorie. Cependant, ces auteurs établissent que ces protéines sanguines anormales ne sont pas présentes dans tous les cas d'amylose et la présence de ces protéines dans le sérum n'impliquent pas la formation de fibres amyloïdes. De plus, ces trois auteurs attribuent récemment la production de la substan ce amyloïde aux cellules du système réticulo-endothélial et aux plasmocytes.

Ces observations sont confirmées et élargies par Teilum (1962) (83) et Missmahl (1969) (57). Pour ces auteurs, la substance amyloïde est produite par la sécrétion locale des cellules du système réticulo-endothélial et elle n'est pas la conséquence de précipités de protéines sanguines. Ils n'ont pas mis en évidence de protéines anormales dans le sérum. Pour Teilum, l'amylose se développe à la suite d'une stimulation persistante d'un mécanisme immun. La première étape est une prolifération active des cellules réticulo-endothéliales, une pyroninophilie indique une augmentation de la production d'ARN. Une deuxième étape montre la présence de granules intracytoplasmiques PAS+. Selon l'auteur (Teilum) ces granules représentent la production de polysaccharides contenant des protéines. Si le stimulus antigénique continue, une phase de désordre fonctionnel se développe et se traduit par une synthèse anormale des protéines. Celles-ci secrétées par les cellules occupent les espaces intercellulaires et représentent la substance amyloïde.

Zucker (91) considère aussi que la substance amyloïde n'est pas une protéine du sang, mais une protéine "anormale" synthétisée par le système réticulo-endothélial. Pour cet auteur, les cellules élaboreraient un précursseur soluble intracytoplasmique de la substance amyloïde qui se polymériserait lors de son excrétion dans l'espace intercellulaire. La coloration à la Thioflavine T ne mettrait en évidence que ces dépôts extracellulaires.

Ainsi, les résultats de ces deux auteurs semblent confirmer les notres. Il apparaît que les réactions réticulo-plasmocytaires observées dans les régions périfolliculaires des rates des souris PS et la présence d'ilots lymphoplasmocytaires dans les reins de ces mêmes souris ne soient pas étrangers au développement de l'amylose. Par contre, les phénomènes d'érythrophagocytose que nous avons observés dans les rates (et dont nous ignorons le rôle pathologique éventuel chez ces souris) ne semblent pas avoir été signalés par ces auteurs.

Enfin, en ce qui concerne l'étiologie de l'amylose, chez les souris PS nous suggérons que le virus de Gross peut représenter probablement l'un des stimulus antigénique permanent qui serait à l'origine d'une perturbation de la synthèse des protéines. Les travaux d'Ebbesen (16)(17)(18)(19) et de Rask Nielsen

(71)(72) sont en faveur de cette hypothèse. Ces auteurs montrent que, l'injection à des souris d'un extrait acellulaire provenant d'une leucémie à plasmocytes, induit chez celles-ci le développement d'une leucémie à plasmocytes et d'amylose. Ils suggèrent que l'association fréquente de ces deux maladies peut être la conséquence d'une hyperimmunisation de l'animal, consécutive à une infection "virale". Pour ces auteurs, le phénomène se traduit par une dépression du système immunitaire provoquant l'apparition de l'amylose.

Chez l'homme l'amylose est fréquemment associée au myélome (74) et à la maladie de Hodgkin. Dans ces cas, une dépression de l'hypersensibilité cellulaire est observée. Une telle dépression traduite par une prolongation du temps de survie de greffons hétérologues est décrite par Ranlow (55) au cours d'une amylose expérimentale.

II.2.5. - CONCLUSION.

Des dépôts amyloïdes, détectés par la coloration à la Thioflavine T, apparaissent d'abord dans la rate, chez les souris PS. Parmi les 18 souris PS examinées à l'âge de 7 mois, 6 présentent des dépôts essentiellement localisés dans cet organe. Les dépôts amyloïdes sont observés ensuite dans les reins et ils succèdent, au niveau des glomérules, aux dépôts d'immunoglobulines. Le foie n'est atteint que très tardivement.

Les cellules du système réticulo-endothélial semblent être impliquées dans la synthèse de la substance amyloïde qu'elles secrèteraient.

La substance amyloïde pourrait être la conséquence d'un désordre fonctionnel dû à une stimulation antigénique continue. Le virus leucémigène de Gross chez les souris PS apparaît comme un des stimulus antigéniques impliqués dans la génèse de cette affection.

CONCLUSION GENERALE

Pour tenter d'expliquer le comportement des souris PS femelles, traduit par une diminution des leucémies spontanées au cours des générations successives et le développement de glomérulonéphrites, nous avons essayé de poursuivre deux buts :

- établir si les souris PS, comme les souris NZB, développent des anomalies sérologiques auto-immunitaires ;

- déterminer l'origine des lésions rénales et éventuellement leur rapport avec la diminution des leucémies spontanées observées chez ces souris.

La première partie de ce travail a montré que les souris PS, quel que soit l'âge, ne développent pas d'anémie hémolytique auto-immune. Le test de Coombs direct a été négatif. Par contre, la technique d'immunofluorescence indirecte a permis d'observer que 35% des souris PS âgées de 12 mois produisent des anticorps anti-nucléaires (tableau 4). Ce pourcentage est très comparable à celui observé chez les souris NZB. Le rôle d'infections virales en tant que stimuli antigéniques "spontanés" a été suggéré chez ces animaux. D'une part l'infection néonatale des souris NZB/W par le virus du polyome ou le virus de la chorioméningite lymphocytaire provoque l'apparition précoce d'anticorps anti-nucléaires chez ces animaux. D'autre part, les souris NZB développant spontanément des anticorps anti-nucléaires présentent une double particularité : abondance de particules virales leucémiques et capacité accrue à produire des anticorps anti-ADN. Il est possible que le même mécanisme puisse être évoqué chez les souris PS : le virus leucémique dont elles sont porteuses à l'état chronique serait responsable de la production des anticorps anti-nucléaires.

La deuxième partie de ce travail a concerné l'étude de l'étiologie de la maladie rénale chez les souris PS. La pathogénie de la néphrite chez les souris PS est vraisemblablement liée à l'existence d'infection virale.

souris PS / tests	3 mois	7 mois	12 mois
Coombs	0/5	0/21	0/13
anticorps anti-nucléaires	0/5	3/20	12/32
Dépôt de globulines au niveau du glomérule	3/5	20/21	30/30
Amylose rénale	0/5	3/18	15/16

Résultats des différents tests effectués chez les souris PS

(nombre de souris positives / nombre de souris testées)

tableau n° 4

Dans une première phase, peu sévère, des complexes formés d'antigènes de virus leucémiques et d'anticorps correspondants se localisent dans les reins. Les observations effectuées sur des coupes de reins congelés provenant des souris PS âgées de 3 à 12 mois ont permis d'observer, par immunofluorescence directe, des dépôts de globulines fixés au niveau des glomérules rénaux. L'élution de ces globulines a montré la présence dans les éluats d'anticorps anti-leucémiques "anti-G". Cette fonction anticorps des globulines éluées a été mise en évidence par immunofluorescence indirecte sur des cellules E G2 vivantes, porteuses de l'antigène G^+.

Les anticorps anti-nucléaires ont été recherchés dans l'éluat par analogie avec les résultats observés chez les souris NZB où ils représentent une part importante des dépôts de complexes immuns. Les résultats négatifs obtenus peuvent être attribués au choix des animaux ayant servis au test. Des examens complémentaires devraient être effectués pour confirmer ces résultats.

Dans une deuxième phase,des dépôts amyloïdes détectés par la coloration à la Thioflavine T apparaissent d'abord dans la rate et plus précisément dans la région périfolliculaire où nous avons observé des réactions réticulo-plasmocytaires importantes. Ces dépôts se localisent ensuite dans les reins, en particulier, au niveau des lésions initiales glomérulaires et sont responsables de l'évolution accélérée et sévère de la néphrite. Nous suggérons qu'une infection virale chronique, en l'occurence le virus leucémique de Gross, soit responsable du développement de l'amylose.

L'étiologie de la maladie rénale chez les souris PS serait la conséquence d'une réaction de l'hôte contre le virus de Gross transmis verticalement. Des complexes immuns "virus anti-virus" se déposeraient au niveau des glomérules rénaux en même temps qu'apparaîtrait un dysfonctionnement du système immunitaire. Ce dernier se traduirait par la production d'anticorps anti-nucléaires, que nous avons mis en évidence dans le sérum et, par le développement de l'amylose.

Cette étude ne nous a pas permis d'aller plus loin dans cette investigation et, seule l'appréciation qualitative d'un

complexe immun impliquant le virus de Gross, au niveau du rein a été étudié. L'étude quantitative de ce complexe immun serait à envisager ainsi que la recherche d'anticorps anti-tumeurs mammaires. L'apparition ultérieure, à ces complexes immuns, de l'amylose serait à approfondir.

Enfin, il n'est pas possible d'établir une relation entre la diminution des leucémies spontanées chez les souris PS et le développement des néphrites. Nous pouvons seulement suggérer que les souris PS meurent entre 10 et 14 mois, c'est à dire à un âge où elles auraient pu développer une leucémie.

APPENDICE I

Caractéristiques des lignées de souris citées dans ce travail (81)

A : Isolée par Strong depuis 1921. Leucémies chez 7,2% des femelles. Tumeurs mammaires chez 80% des femelles multipares et chez 30% des femelles vierges. Anticorsp anti-nucléaires chez 40% des femelles.

A/J : Isolée par Strong depuis 1928. Très nombreuses malformations spontanées chez les nouveaux-nés. Tumeurs mammaires chez 25% des femelles. Les animaux âgés développent des glomérulonéphrites.

AKR : Isolée par Furth depuis 1928. Lignée à très haute incidence leucémique : 85% des animaux développent des leucémies à 12 mois.

BALB/c : Isolée par MacDowell depuis 1936. Très basse incidence de tumeurs mammaires et de leucémies.

C3H/Bi : Isolée par Strong depuis 1920. Tumeurs mammaires chez 83% des femelles. Leucémies chez 1% des femelles et chez 14% des mâles.

C57/Bl : Isolée par Little depuis 1921. Pas de cancer mammaire spontané. Tumeur du tissu réticulaire chez moins de 10% des animaux.

NZB : Isolée par Bielschowsky depuis 1948. Anémie hémolytique auto-immune, anticorps anti-nucléaires et lésions rénales.

NZW : Isolée par Hall. Lignée indemne de toute maladie clinique ou biologique.

NZB/NZW : Manifestations sérologiques identiques à celles du lupus érythémateux disséminé. 45% des femelles développent des anticorps anti-nucléaires. 75% des animaux développent des glomérulonéphrites.

Swiss : Les caractéristiques de ces souris varient selon les sous-lignées (consanguinité partielle). Tumeurs mammaires chez 15 à 20% des femelles. Leucémies chez 5 à 11% des animaux.

APPENDICE II

-NOTIONS DE BASE-

Antigène G+ : Antigène présent au niveau de la membrane cellulaire des cellules infectées par le virus de Gross.

Passage A du virus de Gross : Un extrait acellulaire particulièrement actif, obtenu à partir d'une leucémie spontanée d'une souris AKR, est injecté par passages successifs à des nouveaux-nés C3H/Bi. 95% des souris injectées présentent des leucémies entre 2 mois 1/2 et 3 mois 1/2. Les premiers animaux ont été inoculés en 1957.

Virus de Gross : Virus des leucémies murines spontanées. C'est en 1951 que L. Gross réussit pour la première fois la transmission des leucémies à des lignées de souris qui n'en développent pas spontanément. L'extrait effectué à partir d'organes leucémiques des souris AKR était injecté à des souriceaux nouveaux-nés C3H/Bi.

- BIBLIOGRAPHIE -

1 - ANDERSON W.A.D. : The kidneys, in Pathology. London, Henry Kimpton, 1953, p.38.

2 - AOKI T., BOYSE A. and OLD L.J. : Occurence of natural antibody to the G (Gross) leukemia antigen in mice. Cancer Res., 1966, 26, 1415.

3 - APITZ K. : Die paraproteinosin-über die storung des Eiweisstoffwechsels bei plasmocyton. Virchow Arch Path. Anat., 1940, 306, 631.

4 - BARNES R.D. and TUFFREY M. : Serum antinuclear factor and the influence of environnement in mice. Nature, 1967, 214, 1136.

5 - BECK J.S. : Variations in the morphological patterns of autoimmune nuclear fluorescence. Lancet, 1961, 1, 1203-1205.

6 - BENDITT E. : Chemical classes of amyloïd substances. Amer. J. Path., 1971, 65, 231.

7 - BERNHARD W. : The detection and study of tumor viruses with the electron microscope. Cancer Res., 1960, 20, 712.

8 - BESSIS M. et SCEBAT L. : Etude des cellules de la série plasmocytaire. Etude cytologique du myélome. Rev. Hemat. I, 1946, p.147.

9 - BIELSCHOWSKY M., HELYER B.J. and HOWIE J.B. : Spontaneous haemolytic anaemia in mice of the NZB/BL strain. Proc. Univ. Otago Med. Sch., 1959, 37, 9.

10 - BRANCA M., De PETRIS S., ALLISON A.C., HARVEY J.J. and HIRSH M.S. : Pathological changes in the kidneys of BALB/c mice neonatally infected with moloney leukemogenic and murine sarcoma viruses. Clin. Exp. Immunol., 1971, 9, 853.

11 - BURNET F.M. and HOLMES M.C. : Thymus lesions in auto-immune disease of mice. Nature, 1962, 194, 146.

12 - DALTON A.J., LAW L.W., MOLONEY J.B. and MANAKER R.A. : An electron microscopic study of a series of murine lymphoid neoplasm J. Nat. Cancer inst., 1961, 27, 747.

13 - DIXON F. : The role of antigen-antibody complexes in disease. Harvey Lecture, 1963, 58, 21.

14 - DIXON F., OLDSTONE M.B.A. and TONIETTI G. : Pathogenesis of immune complex glomerulonephritis of New Zeeland mice. J. Exp. Med., 1971, 134, 65.

15 - DUNN T.N. : Relationship of amyloïd infiltration and renal disease in mice. J. Nat. Cancer Inst., 1944, 5, 17.

16 - EBBESEN P., RASK-NIELSEN R. and McINTIRE K.R. : Plasma-cell leukemias in BALB/c mice inoculated with subcellular leukemic material. Acta Path. Microbiol. Scandinavica, 1967, 64, 20.

17 - EBBESEN P. and RASK-NIELSEN R. : On amyloïdosis and paraproteinemia in seven transplantation sublines of a murine plasma cell leukemia. J. Nat. Cancer Inst., 1967, 245, 1818.

18 - EBBESEN P. : A subcellular agent inducing plasma cell leukemias in mice. Munksgaard, Copenhagen, 1968.

19 - EBBESEN P. : Reticulo-sarcoma and amyloïd development in BALB/c mice inoculated with syngeneic cells from young and old donors. J. Nat. Cancer Inst., 1971, 47, 1241.

20 - FRIEDREICH N. and KELULE A. : Zur amyloidfrage. Virchow. Arch. Path. Anat., 1859, 16, 50.

21 - FRIOU L. and TEAGUE C. : Spontaneous auto-immunity in mice. Antibodies to nucleoproteine in strain A/J. Science, 1964, 143, 1333.

22 - McGIVEN A.R. and HICKS J.D. : The development of renal lesions in NZW mice. Immunohistological studies. Brit. J. Exp. Biol. 1967, 48, 302.

23 - McGIVEN A.R. and LYNRAVEN G.S. : Glomerular lesions in NZB/NZW mice. Electron microscopic study of development. Arch. Path. 1968, 85, 250.

24 - McGIVEN A.R. and GHOSE T. : Antinuclear factor in NZB/NZW mice. Incidence and in vitro effects. Clin. Exp. Immunol., 1968, 3, 667.

25 - McGIVEN A.R. and IRONSIDE P.N. : Elution of antinuclear factor from renal lesions of NZB/NZW mice. Clin. Exp. Immunol., 1968, 3, 665.

26 - GLENNER G., EIN D., BLADEN H.A., TERRY W. and PAGE D.L. : Creation of "amyloid" fibrils from Bence Jones proteins in vitro. Science, 1971, 174, 712.

27 - GROSS L. : "Spontaneous" leukemia developing in C3H mice following inoculation, in infancy, with AK-leukemic extracts or AK embryos. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 78, 342-348.

28 - GROSS L. : A filterable agent, recovered from AK leukemic extracts causing salivary gland carcinomas in C3H mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, 83, 414-421.

29 - GROSS L. : Biological properties of the mouse leukemia agent. Cancer, 1953, 6, 153-158.

30 - GRUPPER Ch. and MARCEL G. : Le traitement du lupus érythémateux aigu. La Revue du Praticien, 1965, 15, 2585.

31 - GUDE W.D. and UPTON A.D. : Spontaneous glomerulosclerosis in aging RF mice. J. Gerontl., 1960, 15, 373-376.

32 - HANNA M.G., TENNANT R.W., YUHAS J.M., CLAPP N.K., BATZING B.L., and SNODGRASS M.J. : Autogenous immunity to endogenous RNA tumor virus antigens in mice with a low natural incidence of lymphoma. Cancer Res., 1972, 32, 2226-2234.

33 - HASS G.M., HUNTINGTON R. and KRUMDIECK N. : Amyloid III. The proprietie of amyloid deposits occuring in several species under diverse conditions. Arch. Path., 1943, 35, 226.

34 - HELYER B.J. and HOWIE J.B. : Positive LE test in a cross bred strain of mice NZB/BL - NZW/BL. Proc. Univ. Otago Med. Sch., 1961, 39, 3.

35 - HELYER B.J. and HOWIE J.B. : The thymus of auto-immune disease. Lancet, 1963, 11, 26.

36 - HESTON W.E. and DERINGER M. : Heriditary renal disease and amyloidosis in mice. Arch. Path., 1948, 46, 49.

37 - HUEBNER R.J., KELLOFF G.J., SARMA P.D., LANE W.T. and TURNER H.C.: Group-specific antigen expression during embryogenesis of the genome of the C-type RNA tumor virus : implications for ontogenesis and oncogenesis. Proc. Nat. Acad. Sci., 1970, 67, n°1, 366.

38 - HEWIT J. : Le lupus érythémateux disséminé traditionnel vu par un dermatologiste. La Revue du Praticien, 1965, 15, 2545.

39 - HIRSCH M., ALLISON A. and HARVEY J. : Immune complexe in mice infected neonatally with moloney leukaemogenic and murine sarcoma viruses. Nature, 1969, 223, 739.

40 - HOLBOROW E.J., BARNES R.D.J. and TUFFREY M. : A new red cell auto-antibody in NZB mice. Nature, 1965, 207, 601.

41 - HOLLMAN K. et VERLEY J.M. : Présence de particules virales dans les organes de la souris NZB. C. R. Acad. Sci., 1967, 264, 871.

42 - JUHAS J.M. and Neal K. CLAPP : Incidence of leukemia and non lymphatic tumors in mice with glomerulosclerosis and ollied disorders. J. Cancer Inst. , 1972, 48, 367.

43 : KRAWKOV N.P. : Ueber bei thieren experimentell herborgerufenes amyloid. Centrall. f. Allgem. Path. und Path. Anat., 1895, 6, 337.

44 - LAMBERT Ph. and DIXON F. : Pathogenesis of the glomerulonephritis of NZB/W mice. J. Exp. Med., 1968, 127, 507.

45 - LAMBERT Ph., CREIGHTON D., GOODMAN R., BANKHUST A. and MIESCHER P.A. : Approche expérimentale de la pathogénie du lupus érythémateux. Journal d'Urologie et de Néphrologie, 1972, 12, 973, 1003.

46 - LIEVRE J.A., CALYS J.P., CHOMETTE G., CROUZET J. et VITALE C. : Amylose révélatrice d'une cryptoleucose plasmocytaire chez une femme enceinte. Sem. des Hôp. Paris, 1971, 1619.

47 - LETTERER E. : Studien über art und Entstehung des amyloids. Path. Anat., 1926, 75, 486.

48 - MAGNUS-LEVY A. : Bence-Jones. Eiwess und amyloid. Z. Klin. Med., 1931, 116, 510.

49 - MAGNUS-LEVY A. : Multiple myelome VII. Z. Klin. Med., 1933, 126, 62.

50 - MANN : Ueber die behandlung der nervenzellen fur experimentell histologische untersuchungen. Ztschr. f. Wiss. Mikr., 1894, p.489.

51 - MELLORS R.C. and ORTEGA L.G. : Analytical pathology. III- New observation on the pathogenesis of glomerulonephritis, lipid nephrosis, periarteritis nodosa, and secondary amyloidosis in man. Am. J. Path., 1956, 32, 455.

52 - MELLORS R.C. : Auto-immune disease NZB mice. Pathogenesis of a model system of spontaneous glomerulonephritis. J. Exp. Med., 1965, 112, 25.

53 - MELLORS R.C. and HUANG C.Y. : Immunopathology of NZB/BL mice. V- Virus like (filtrable) agent separable from lymphoma cells and identifiable by electron microscopy. J. Exp. Med., 1966, 124, 1301.

54 - MELLORS R.C., AOKI T. and HUEBNER R.J. : Further implication of murine leukemia like virus in disorders of NZB mice. J. Exp. Biol. 1969, 129, 1405.

55 - MELLORS R.C. : Wild-type Gross leukemia virus and heritable autoimmune disease of New Zeeland mice. Amer. J. Clin. Path., 1971, 56, 770.

56 - MIKOL C. et PAUPE J. : Les maladies avec auto-anticorps. La Presse Médicale, 1964, 72, 42.

57 - MISSMAHL H.P. : Amyloidosis. Textbook of immunopathology. Ed. by Peter A. Miescher M.D., 1969, 2, 430.

58 - MONIER J.C. : Recherches concernant les caractéristiques des anticorps anti-nucléaires et leur mécanisme d'apparition. Thèse de Sciences, Lyon 1969.

59 - MOURIQUAND J. et MOURIQUAND C. : Considérations sur les différentes manifestations malignes dans la nouvelle souche de souris PS. Extrait des Annales de l'Institut Pasteur, 1962, 102, 174.

60 - MOURIQUAND J. et MOURIQUAND C. : Tumeurs mammaires et leucémies de la souche PS. Considérations étiologiques. Path. Biol., 1965, 13, 690.

61 - NEBUT M. et HARTMANN L. : Identification histologique de la substance amyloïde par la thioflavine T en lumière U.V.. Ann. Biol. Clin., 1966, 24, 703.

62 - NORINS L.C. and HOLMES M.C. : Antinuclear factor in mice. J. of Immunol., 1964, 93, 148.

63 - OLDSTONE M., AOKI T. and DIXON F. : The antibody response of mice to murine leukemia virus in spontaneous infection : absence of classical immunologic tolerance. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, 69, n°1, 134.

64 - OLDSTONE M. and DIXON F. : Lymphocytic choriomeningitis : production of antibody by "tolerant" infected mice. Science, 1967, 158, 1193.

65 - OLDSTONE M. and DIXON F. : Pathogenesis of chronic disease associated with persistant lymphocytic choriomeningitis viral infection. I- Relationships of antibody production to disease in neonatally infected mice. J. Exp. Med., 1969, 129, 483.

66 - OSSERMAN E.F. : Amyloidosis, tissue proteinosis, gammaloidosis (Editorial). An. Internat. Med., 1961, 55, 1033.

67 - OSSERMAN E.F., TAKATSUKI K. and TALAL N. : The pathogenesis of amyloidosis. Seminars Hematol., 1964, 1, 3.

68 - PORTER D. and LARSEN A. : Aleutian disease of mink : infections virus antibody complexes in the serum. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1967, 126, 680.

69 - PORTER D., LARSEN A. and PORTER H. : The pathogenesis of aleutian disease of mink. I- In vivo viral replication and the host antibody to viral antigen. J. Exp. Med., 1969, 130, 1535.

70 - RANLOV P. : The role of the thymus in experimental mouse amyloidosis. Acta Path. Microbiol. Scand., 1966, 67, 42.

71 - RASK-NIELSEN R., ROBERT K. and EBBESEN P. : Plasma cell leukemia in BALB/c mice inoculated with subcellular material. II- Serological changes. J. Nat. Cancer Inst., 1960, 25, 315.

72 - RASK-NIELSEN R., CHRISTENSEN H.E. and CLAUSEN J. : Electrophoretic and morphologic studies of a transplantable reticulum cell neoplasm in mice inducing amyloidosis. J. Nat. Cancer Inst., 1960, 25, 315.

73 - RECHER L., TANAKA T., SYKES J.A., YUMOTO T., SEMAN G., YOUNG L. and DMOCHOWSKI L. : Futher studies on a the biological relationships of murine leukemia viruses and on kidney lesions of mice with leukemia induced by these viruses. Nat. Cancer Inst. Monog., 1966, 22, 459.

74 - RENOUX M., DORF G., AIMEZ P., REYNES T., MARCELLI P., BOUR H. : Amylose à localisation intestinale cliniquement prédominante révélatrice d'une maladie de Hodgkin. Sem. Hôp. Paris, 1971, 47, 2411.

75 - ROBINEAUX et PINET J. : La cellule de Hargraves. Description, signification et techniques de recherche. La Revue du Praticien, 1965, 15, 2523.

76 - ROKITANSKY K. : Handbuch der pathologischen anatomie, Vol. 3, Vienna, Braumuller and Seidel, 1842.

77 - SELIGMAN M. et CANNAT A. : Les anticorps antinucléaires du lupus érythémateux disséminé. La Revue du Praticien, 1965, 15,

78 - SELIGMAN M., CANNAT A. and HAMARD M. : Studies on antinuclear antibodies. Annals N.Y. Acad. Sc., 1965, 816.

79 - SIGUIER F., GODEAU P. et BERTHEAUX P. : Historique, fréquence et pathogénèse du lupus érythémateux disséminé (LEAD). LaRevue du Praticien, 1965, 15, 2513.

80 - SIEGLER R. : Pathogenesis of thymic changes NZB mice with haemolytic anemia. J. Exp. Med., 1965, 122, 929.

81 - STAATS J. : Standardized nomenclature for inbred strains of mice : fifth listing. Cancer Res., 1972, 32, 1609.

82 - TAN E.M. : An immunologic precipitin system between soluble nucleoprotein and serum antibodies in systemic lupus erythématosus. J. Clin. Invest., 1967, 46 735.

83 - TEILUM G. : Pathogenesis of amyloidosis. The two phase cellular theory of local secretion. Acta Path. Microbiol. Scandi., 1964, 61, 21.

84 - THIVOLET J., MONIER J.C., RUEL J.P. et RICHARD M.H. : Antinuclear antibodies in Swiss mice thymectomized at birth. Nature, 1967, 214, 1134.

85 - TONIETTI G., OLDSTONE M. and DIXON F. : The effect of induced chronic viral infections on the immunologic disease of New Zeeland mice. J. Exp. Med., 1970, 132, 89.

86 - VARET B. : Les souris NZB. Path. Biol., 1968, 16, 885.

87 - VOISIN G.A. : Phénomène auto-immunitaire, sa nature et sa signification. Immunologie Paul Bordet, 1972, 1149.

88 - De VRIES M.J., VAN PUTTEN L.M., BALNER H. and VAN BEKKUM D.W. : Lésions suggérant une réactivité auto-immune chez des souris atteintes de la "Runt disease" après thymectomie néonatale. Rev. Fr. Etudes Clin. et Biol., 1964, 9, 381.

89 - VIRCHOW R. : Uber eine im Gehirn und Rückenmark aufgefundene substanz mit der chemischen reaktion der cellulose. Virchow. Arch. Path. Anat., 1853, 6, 123.

90 - WARNER N.L. et WISTAR R. : Immunoglobulins in NZB/Bl mice. Serum immunoglobulin levels and immunoglobulin class of erythrocyte auto-antibody. J. Exp. Med., 1968, 127, n°1, 169.

91 - ZUCKER-FRANKLIN D. and FRANKLIN C. : Intracellular localisation of human amyloid by fluorescence and electron microscopy. Amer. J. Path., 1970, 59, 23.

VU

Grenoble, le

le Président de la thèse

VU, et permis d'imprimer

Grenoble, le

le Président de l'Université
Scientifique et Médicale